

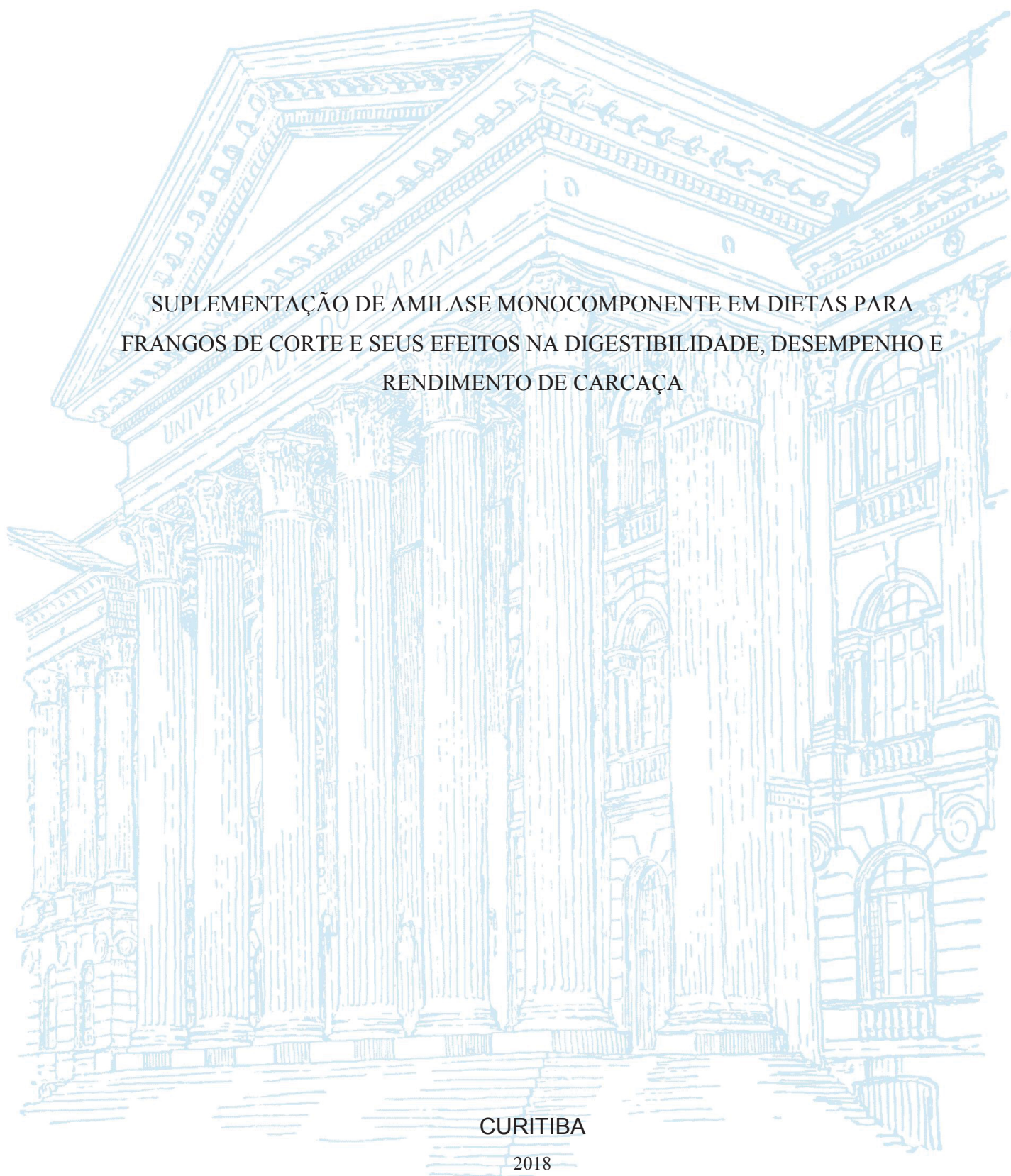
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

VINÍCIUS GONSALES SCHRAMM

SUPLEMENTAÇÃO DE AMILASE MONOCOMPONENTE EM DIETAS PARA
FRANGOS DE CORTE E SEUS EFEITOS NA DIGESTIBILIDADE, DESEMPENHO E
RENDIMENTO DE CARCAÇA

CURITIBA

2018



VINÍCIUS GONSALES SCHRAMM

SUPLEMENTAÇÃO DE AMILASE MONOCOMPONENTE EM DIETAS PARA
FRANGOS DE CORTE E SEUS EFEITOS NA DIGESTIBILIDADE, DESEMPENHO E
RENDIMENTO DE CARCAÇA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Zootecnia, do Setor de Ciências Agrárias da
Universidade Federal do Paraná, como parte das
exigências para obtenção do título de Doutor.

Orientador: Prof. Dr. Alex Maiorka

Coorientadora: Prof. Dra. Ananda Portella Félix

CURITIBA

2018

SCH377a

Schramm, Vinícius Gonsales

Suplementação de amilase monocomponente em dietas para frangos de corte e seus efeitos na digestibilidade, desempenho e rendimento de carcaça / Vinícius Gonsales Schramm. - Curitiba, 2018.

105 f. : il., grafs., tabs.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

Orientador: Alex Maiorka

Coorientadora: Ananda Portella Félix

1. Frango de corte - Alimentação e rações. 2. Amilase. 3. Nutrição animal. I. Maiorka, Alex. II. Félix, Ananda Portella. III. Título. IV. Universidade Federal do Paraná.

CDU 636.5.033

PARECER



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ZOOTECNIA

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ZOOTECNIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **VINICIUS GONSALES SCHRAMM** intitulada: **Suplementação de Amilase monocomponente em dietas para frangos de corte e seus efeitos na digestibilidade, desempenho e rendimento de carcaça**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua Aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 26 de Março de 2018.


ALEX MAIORKA

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


KEYSUKU MURAMATSU

Avaliador Externo (JBS S.A)


EVERTON LUIS KRABBE

Avaliador Externo (EMBRAPA)


SIMONE GISELE DE OLIVEIRA

Avaliador Interno (UFPR)

AGRADECIMENTOS

A minha esposa Fernanda pela compreensão, pelo amor e por todo apoio.

Aos meus pais, Juliete e Wagner pelo amor e pelo incentivo.

Ao meu orientador Professor Dr. Alex Maiorka pelos conselhos não só nos assuntos acadêmicos, mas também para assuntos pessoais.

A minha co-orientadora Professora Dra. Ananda Portella Félix, por toda orientação e consideração.

A família do LEPNAN: Lucas, Jeanzinho, Andréia, Mineiro, Josi, Chay, Jean Natel, Zavela, Bassi, Leo e Gabi e por toda ajuda e companheirismo tanto nos momentos suor quanto os de festas.

Ao pessoal da NCSU: Ramom, Dr. Ferket, Rafael, Marissa e Samantha pela oportunidade e aprendizado.

Ao pessoal do Laboratório de Nutrição Animal, Cleusa, Marcelo, Ruy, Hair e Aldo pela paciência e pela amizade.

A equipe de nutrição Seara, Ivânio, Keysuke, Rodolfo, Eduardo, Eloisa e Sandra pelo apoio e por todas as discussões técnicas.

A todos o meu muito obrigado!

“Se consegui ver mais longe é porque estava aos ombros de gigantes”

Isaac Newton

RESUMO

A finalidade da tese foi avaliar a suplementação de amilase em doses crescentes na dieta e no milho, equivalência energética e interações da enzima com peletização no desempenho, digestibilidade e rendimento de carcaça de frangos de corte. Para isso foram realizados 4 experimentos: No Exp. 1, utilizou-se 640 frangos alimentados com 10 dietas com níveis crescentes de amilase, sendo: 0; 40; 80; 120 e 160 KNU/kg em ração a base de milho e farelo de soja e as mesmas doses na ração no milho (utilizando Matterson et al., 1965). Avaliou-se a digestibilidade do conteúdo do jejuno (CDj) e do íleo (CDi) da MS, da proteína bruta (PB), do amido disponível (AD), resistente (AR) e total (AT), retenção total do trato (RTT) da MS e EMA. Para avaliação da equivalência energética, foram realizados 2 experimentos: Exp. 2 e 3, em que as aves ingeriram dietas com níveis crescentes de energia e em um tratamento igual ao menor nível foi adicionado amilase, sendo: dieta padrão (0) + amilase (80 KNU/Kg), 0, +50, +100, +150 e +200 kcal utilizando 1200 aves de 1 a 42 dias no Exp. 2. No Exp. 3, foram utilizadas 1000 aves de 35 a 47 dias sendo: 0+amilase, 0, +80, +160 e +240 kcal. Em ambos experimentos, avaliou-se o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA) e no experimento 3 também foram avaliados CDi, energia digestível (EDi), rendimento de carcaça (RC), de peito (RP), de coxa e sobrecoxa (RC+S) e gordura abdominal (GA). Com a finalidade de verificar interação da amilase e a peletização, no Exp. 4, avaliou-se as mesmas variáveis do Exp.3 utilizando 800 aves divididas em 4 tratamentos: dieta farelada; farelada com amilase (80KNU/kg); peletizada; e peletizada com amilase. No Exp. 1, com exceção do AD, a digestibilidade do milho foi superior ($P<0,05$). Também foi encontrado aumento linear na CDj da MS, CDi do AR, RTT da MS e na EMA com a inclusão da amilase. Utilizando *Linear Response Plateau*, verificou-se a resposta máxima de amilase na dieta em dose de 80 KNU/kg em 64 kcal de EMA. E no milho, onde a resposta foi mais expressiva, as doses variam de 47 a 120 KNU/Kg, podendo gerar até 332 Kcal/kg. No Exp. 2, as equivalências foram -5 Kcal para CA de 1-21 dias, 140 e 125 Kcal para CR e CA de 22-42 dias e de 85 Kcal para CA de 1-42 dias de idade. No Exp. 3, no GP e CA de 35-42, 43-47 e de 35-47 dias de idade, as equivalências foram 46 e 63; 82 e 22; 40 e 78 kcal, respectivamente. Para CDi da MS, AD e AT, energia digestível e na GA a equivalência foi de 39; 50; 61; 41 e 7 kcal, respectivamente. Para CDi do AR e RP foi observado efeito quadrático com equivalência de 87 e 34 kcal, respectivamente. No Exp.4, foi encontrada interação entre amilase e peletização no CDi da PB ($P<0,05$). As dietas peletizadas apresentaram maior CR e GP em todos os períodos avaliados e melhor CA de 35 a 42 dias de idade ($P<0,05$). Porém de 43 a 47 dias foi encontrado piora na CA ($P<0,05$). A amilase melhorou o CR e o GP de 35 aos 42 dias ($P<0,05$). A amilase melhora e a peletização piora CDi da MS e do AR. A amilase e a peletização também melhoram a EDi ($P<0,05$) e peletização aumentou a GA ($P<0,05$). Para os demais parâmetros não foram encontrados efeitos ($P>0,05$). Conclui-se que a amilase melhora a digestibilidade principalmente do milho, como consequência também pode melhorar o desempenho, resultando em mais energia para ave principalmente nas fases finais. A amilase também interage de positivamente com a peletização podendo melhorar a digestibilidade, podendo reduzir parte efeito negativo ração peletizada na digestibilidade da PB.

Palavras-chave: amilase; amido resistente; digestibilidade; *Linear Response Plateau*

ABSTRACT

The aim of the thesis was to evaluate the enzyme supplementation with increasing doses in the diet and maize, the energy equivalence and the interactions of the enzyme with the capacity to produce, the digestibility and the carcass yield of broilers. For this, 4 experiments were carried out: In Exp. 1, 640 broilers were fed with 10 diets with increasing levels of amylase, being: 0; 40; 80; 120 and 160 KNU / kg in rations based on corn and soybean meal and as doses in the feed corn (using Matterson et al., 1965). It was evaluate the digestibility of contents of the jejunum (jDC) and ileum (iDC) for DM, crude protein (CP), available starch (AS), resistant (RS) and total (TS), total tract retention (TTR) of DM and AME. In order to evaluate energy equivalence, two experiments were evaluated: Exp. 2 and 3, in birds with ingested diets with increasing energy levels and in a treatment equal to the lowest level amylase was added, being: standard diet (0) + amylase (80 KNU / Kg), 0, + 50, +100, +150 and +200 kcal using 1200 birds from 1 to 42 days in Exp 2. In Exp 3, 1000 birds of 35 to 47 days were used, with 5 diets, being: 0 + amylase, 0, +80, +160 and +240 kcal. The experiments evaluated the feed intake (FI), the weight gain (WG) and the feed conversion (FC). In Exp 3,, also was evaluated the digestibility, carcass yield (CY), breast yield (BY), of the thigh and drumstick yield (T+D) and abdominal fat (AF). In order to verify amylase interaction and pelletizing, in Exp. 4, the same Exp 3 variables were evaluate using 800 birds divided into 4 treatments: mash diet; mash diet with amylase (80 KNU / kg); pelleted diets; and pelleted with amylase. In Exp. 1, with the exception of AS, corn digestibility was higher ($P < 0.05$). It was also found a linear increase in iDC of DM, iDC of RS, TTR of MS and in AME with inclusion of amylase. Using *Linear Response Plateau*, the maximum amylase response in the diet at a dose of 80 KNU/kg and in 64 kcal AME was verified. In corn, where the response was more expressive, the doses vary from 47 to 120 KNU / kg, and it can generate up to 332 Kcal / kg. In Exp. 2, the equivalences were -5 Kcal for FC from 1-21 days, 140 and 125 Kcal for FI and FC from 22-42 days and 85 Kcal/kg for FC from 1-42 days of age. In Exp. 3, in WG and FC 35-42, 43-47 and 35-47 days of age, equivalences were 46 and 63; 82 and 22; 40 and 78 kcal, respectively. For iDC of DM, AS and TS, digestible energy and in AF the equivalence was 39; 50; 61; 41 and 7 kcal, respectively. For iDC of RS and BY, a quadratic effect with equivalence of 87 and 34 kcal, respectively, was observed. In Exp.4, interaction between amylase and pelleting in the iDC of CP ($P < 0.05$) was found. Pelleted diets presented higher FI and WG in all evaluated periods and better FC from 35 to 42 days of age ($P < 0.05$). However, from 43 to 47 days worsening was found in FC ($P < 0.05$). Amylase improved FI and WG from 35 to 42 days ($P < 0.05$). Amylase improves and pelletisation worsens CDi of DM and RS. Amylase and pelletization also improved EDi ($P < 0.05$) and pelletizing increased GA ($P < 0.05$). For the other parameters, no effects were found ($P > 0.05$). It can concluded that amylase improves digestibility mainly of corn, as a consequence can also improve performance, resulting in more energy for bird mainly in the final stages. The amylase also interacts positively with the pelletization and can improve the digestibility, which may reduce part negative effect pelleted feed in the digestibility of PB.

Key words: amylase; digestibility; LRP; resistant starch

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das dietas utilizadas no experimento.	41
Tabela 2. Atividade enzimática dos tratamentos e composição básica das dietas.	42
Tabela 3. Composição química do milho utilizado no experimento.	43
Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente do conteúdo jejunal (CDj) e do conteúdo ileal (CDi) da matéria seca (MS), amido disponível (AD), amido resistente (AR), amido total (AT) e retenção total do trato (RTT) da MS e energia metabolizável aparente (EMA; Kcal/kg de MS) de dietas e do milho com suplementação de níveis crescentes de amilase em frangos de 25 dias de idade.....	44
Tabela 5. Regressões dos coeficientes de digestibilidade aparente do conteúdo jejunal (CDj) e do conteúdo ileal (CDi) da matéria seca (MS), amido disponível (AD), amido resistente (AR), amido total (AT) e retenção total do trato (RTT) da MS e energia metabolizável aparente (EMA; Kcal/kg) de dietas e do milho com suplementação de níveis crescentes de amilase em frangos de 25 dias de idade.....	45
Tabela 6. Composição das dietas do experimento 1.....	66
Tabela 7. Dietas experimentais experimento 1.....	67
Tabela 8. Dietas experimentais experimento 2.....	68
Tabela 9. Dietas experimentais dos frangos de corde de 35 a 47 dias de idade no experimento 2.	69
Tabela 10. Consumo de ração (CR; kg), ganho de peso (GP; kg) e conversão alimentar (CA; kg/kg) de frangos de corte de 1 a 21, de 22 a 42 e de 1 a 42 dias de idade alimentados com dietas com níveis decrescentes de energia, e um tratamento com menor nível de energia com amilase.....	71
Tabela 11. Consumo de ração (CR; g), ganho de peso (GP; g) e conversão alimentar (CA; g/g) de frangos de corte de 35 a 47 dias de idade alimentados com dietas com níveis decrescentes de energia, e um tratamento com menor nível de energia com amilase.....	72
Tabela 12. Coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca (CDiMS), da proteína bruta (CDiPB), do amido disponível (CDiAD), do amido resistente (CDiAR) e do amido total	

(CDiAT) e energia digestível ileal (EDi), rendimento de carcaça (RC, %), rendimento de peito (RP, %), rendimento coxa e sobrecoxa (RC+ S) e gordura abdominal (GA) de frangos de corte aos 47 dias de idade alimentados com dietas com níveis decrescentes de energia, e um tratamento com menor nível de energia com amilase.	73
Tabela 13. Equivalência da enzima utilizando os diferentes parâmetros significativos para as regressões.	74
Tabela 14. Dietas experimentais.....	100
Tabela 15. Tratamentos experimentais.....	101
Tabela 16. Resultado de qualidade física das dietas peletizadas.	101
Tabela 17. Consumo de ração (CR; g), ganho de peso (GP; g), conversão alimentar (CA; g/g) e conversão alimentar ajustada para 3000g e 3500g (CAJ3000 e CAJ3500, respectivamente) de frangos de corte de 35 a 47 dias de idade alimentados com dietas fareladas e peletizadas com e sem amilase.	102
Tabela 18. Coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca (CDiMS), da proteína bruta (CDiPB), do amido disponível (CDiAD), do amido resistente (CDiAR) e do amido total (CDiAT) e energia digestível ileal (EDi) de frangos de corte aos 47 dias de idade alimentados com dietas fareladas e peletizadas com e sem amilase.....	103
Tabela 19. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de peito (RP), rendimento coxa e sobrecoxa (RC+ S) e gordura abdominal (GA) de frangos de corte aos 47 dias de idade alimentados com dietas fareladas e peletizadas com e sem enzima.	103

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da estrutura física do grão de milho e suas frações (Encyclopaedia Britannica, 1996).	3
Figura 2. Estrutura química e as diferenças entre as ligações da amilose e da amilopectina, moléculas do amido (Xie et al., 2014).	5
Figura 3. Demonstração esquemática das regiões amorfa e cristalina do grânulo de amido (Parker e Ring, 2001).	6
Figura 4. Relação entre ingestão de alimento e a digestibilidade de amido em frangos de corte (Adaptado de Svihus, 2011)	8
Figura 5. Interação das respostas de enzimas na nutrição animal (Adeola e Cowieson, 2011).	12
Figura 6. Demonstração gráfica do cálculo de equivalência energética da amilase utilizando a regressão linear da conversão alimentar de 1 a 42 dias de idade. Com o Y da equação conhecido (média da variável analisada com enzima) pode-se determinar o X , que seria a equivalência energética.....	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

® - registrado

°C- graus celcius

% - percentagem

AD – Amido Disponível

AT – Amido Total

AR - Amido Resistente

ANOVA – análise de variância

CA – conversão alimentar

CDi – coeficiente de digestibilidade aparente ileal

CDj – coeficiente de digestibilidade aparente do conteúdo do jejuno

CEUA - Comitê de Ética ao Uso de Animais

CIA – cinza insolúvel ácida

CR – consumo de ração

EB – energia bruta

EM – energia metabolizável

EDi – energia digestível ileal

FI – Fator de indigestibilidade

g - grama

GP – Ganho de peso

IUB - União Internacional de Bioquímica

Kg – quilograma

KNU – unidades kilo-Novo

LRP - *Linear Response Plateau*

mg - miligrama

MS – Matéria seca

nm - nanômetro

PB – Proteína bruta

ppm – partes por milhão

ton - tonelada

UI - unidades internacionais

COMITÊ DE ÉTICA 1



Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências Agrárias
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA SCA

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo no. 035/2012, referente ao projeto “Utilização de amilase e xilanase em dietas para frangos de corte”, sob a responsabilidade de Vinicius Gonsales Schramm, na forma em que foi apresentado (uso de 2934 frangos), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 06 de fevereiro de 2013.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 035/2012, regarding the project “Utilização de amilase e xilanase em dietas para frangos de corte”, under the charge of Vinicius Gonsales Schramm, in the terms it was presented (use of 2934 chicken), was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Southern Brazil) during session on February 06, 2013.

Curitiba, 06 de fevereiro de 2013.



Patrick Schmidt
Presidente



Rosângela Locatelli Ditttrich
Vice-Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais
Setor de Ciências Agrárias
Universidade Federal do Paraná.

COMITÊ DE ÉTICA 2



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 054/2014, referente ao projeto "Interação entre as enzimas amilase e xilanase em dietas processadas para frangos de corte", sob a responsabilidade de Alex Maiorka, na forma em que foi apresentado (utilização de 372 frangos e como grau B de invasividade), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 10 de Outubro de 2014.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 054/2014, regarding the project "Interaction between the enzymes amylase and xylanase in diets processed for broilers", under Alex Maiorka supervision, in the terms it was presented (use of 372 broilers and was classified as grade B of invasiveness), was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Brazil) during session on October 10, 2014.

Curitiba, 22 de Abril de 2015.

Aranda Portella Félix
Presidente CEUA-SCA

Simone Tostes de Oliveira Stedile
Vice-Presidente CEUA-SCA

COMITÊ DE ÉTICA 3



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 020/2015, referente ao projeto “**Avaliação de parâmetros do processo de peletização de dietas para frangos de corte**”, sob a responsabilidade de **Alex Maiorka** – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de Outubro, de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - BRASIL, com grau B de invasividade, em reunião de 08/07/2015

Vigência do projeto	Agosto de 2015 a Outubro de 2015
Espécie/Linhagem	Frangos de corte Cobb
Número de animais	2368
Peso/Idade	1-49 dias/50 g a 3,0 kg
Sexo	Machos
Origem	Incubatório comercial

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 020/2015, regarding the project “**Evaluation of pelletization process parameters in diets for broilers chickens**”, under **Alex Maiorka** supervision – which includes the production, maintenance and/or utilization of animals from Chordata phylum, Vertebrata subphylum (except Humans), for scientific or teaching purposes – is in accordance with the precepts of Law nº 11.794, of 8 October, 2008, of Decree nº 6.899, of 15 July, 2009, and with the edited rules from Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), and it was approved by the ANIMAL USE ETHICS COMMITTEE OF THE AGRICULTURAL SCIENCES CAMPUS OF THE UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (Federal University of the State of Paraná, Brazil), with degree B of invasiveness, in session of 07/08/2015.

Duration of the project	August 2015 to October 2015
Specie/Line	Broilers Cobb
Number of animals	2368
Wheight/Age	1-49 days/50 g to 3.0 kg
Sex	Males
Origin	Commercial hatchery

Curitiba, 08 de Julho de 2015.

Ananda Portella Félix
Presidente CEUA-SCA

Simone Tostes de Oliveira Stedile
Vice-Presidente CEUA-SCA

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
REVISÃO	3
<i>Milho: principal componente das dietas para frangos de corte</i>	3
<i>Amido</i>	4
<i>Digestibilidade do amido</i>	7
<i>Processamento térmico e melhora no aproveitamento das dietas</i>	9
<i>Enzimas</i>	10
<i>Amilase</i>	12
CONCLUSÃO	13
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
CAPÍTULO 2. Amilase melhora a digestibilidade de dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte	21
RESUMO	23
INTRODUÇÃO	24
MATERIAL E MÉTODOS	26
<i>Animais e local do experimento</i>	27
<i>Dietas experimentais</i>	27
<i>Ensaio de digestibilidade</i>	28
<i>Análises químicas</i>	29
<i>Análise estatística</i>	30
RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIAS	36
CAPÍTULO 3. Equivalência energética da amilase exógena em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte	46
RESUMO	48
Palavras-chave:	48
INTRODUÇÃO	49
MATERIAL E MÉTODOS	50
EXPERIMENTO 1 – Equivalência energética nas diferentes fases (1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade)	50
<i>Animais e local do experimento</i>	50
<i>Dietas experimentais</i>	51

<i>Desempenho</i>	51
<i>Análise estatística</i>	52
EXPERIMENTO 2 – Equivalência energética da amilase na fase final (35 a 47 dias de idade)	53
<i>Animais e local do experimento</i>	53
<i>Dietas experimentais</i>	53
<i>Desempenho</i>	53
<i>Digestibilidade</i>	54
<i>Rendimento de carcaça e cortes</i>	55
<i>Análise estatística</i>	55
RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
EXPERIMENTO 1 – Equivalência energética nas diferentes fases (1 a 21 e 22 a 42 dias)	56
<i>Desempenho</i>	56
EXPERIMENTO 2 – Equivalência energética da amilase na fase final (35 a 47 dias de idade)	59
<i>Desempenho</i>	59
<i>Digestibilidade</i>	60
<i>Rendimentos</i>	61
CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS	62
CAPÍTULO 4. Interação da amilase exógena e processamento térmico em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte	75
RESUMO	77
INTRODUÇÃO	78
MATERIAL E MÉTODOS	80
<i>Animais e local do experimento</i>	80
<i>Dietas experimentais</i>	80
<i>Qualidade física da ração</i>	81
<i>Desempenho</i>	82
<i>Digestibilidade</i>	82
<i>Rendimento de carcaça</i>	83
<i>Análise Estatística</i>	84
RESULTADOS E DISCUSSÃO	84

<i>Qualidade Física das Rações</i>	84
<i>Desempenho</i>	85
<i>Digestibilidade</i>	87
<i>Rendimento de carcaça</i>	91
CONCLUSÃO	92
REFERÊNCIAS	93

INTRODUÇÃO

A amilase, enzima que hidrolisa o amido, é secretada pelas aves, fazendo com que teoricamente o potencial de digestão do amido seja de 100%. Apesar do amido ser considerado um composto de elevada digestibilidade não é totalmente aproveitado e isso pode ocorrer em função de muitos fatores ligados a planta, ao tipo e estrutura do amido, a limitações fisiológicas da ave bem como ao processamento e forma física da dieta. Esse amido que não é digerido pelas enzimas digestivas na fração proximal do intestino é fermentado por bactérias na fração final do trato, resultando no mesmo valor de digestibilidade, porém a energia fornecida para ave é menor pela fermentação bacteriana. Em função das aves não aproveitarem parte do amido, há potencial para a suplementação de enzimas exógenas na dieta.

As enzimas são adicionadas na dieta com a finalidade melhorar a digestibilidade, seja por redução de fatores anti-nutricionais ou por complementar o aparato enzimático endógeno. A amilase, que complementa o aparato endógeno, pode melhorar a digestibilidade do amido e de outros compostos e por consequência melhorar o desempenho da ave.

O objetivo da tese foi estudar os efeitos da inclusão de doses crescentes de amilase, sua equivalência energética bem como interações com processamento térmico de dietas no desempenho, digestibilidade e rendimento de carcaça de frangos de corte.

CAPÍTULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

REVISÃO

Milho: principal componente das dietas para frangos de corte

O milho (*Zea mays*) pode representar mais de 60% da totalidade das dietas para frangos de corte. Apesar do milho ser uma *commodity*, representando cerca de 65% da energia e 20% da proteína de dietas para frangos de corte (Cowieson & Adeola, 2005). A composição nutricional pode variar, principalmente em função do teor de amido, óleos, proteínas, fatores anti-nutricionais como fitato, amido resistente, PNA e inibidores de enzimas presentes nesse cereal (Cowieson, 2005).

O grão de milho é dividido em algumas frações (Figura 1). O endosperma, aproximadamente 81 a 83% do grão, é constituído por cerca de 87% de amido e 8 a 9% de proteína (Watson, 1987; Carvalho e Nakagawa, 2000). A proteína se concentra principalmente no endosperma vítreo, no qual o amido está circundado por uma matriz proteica, enquanto que no endosperma farináceo o amido encontra-se de maneira dispersa (Watson, 1987). No gérmem, cerca de 11% do grão, concentram-se a maioria dos lipídeos (88%) e dos minerais (78%) presentes nos grãos, enquanto que na casca situa-se a maioria da fibra (Watson, 1987; Carvalho e Nakagawa, 2000).

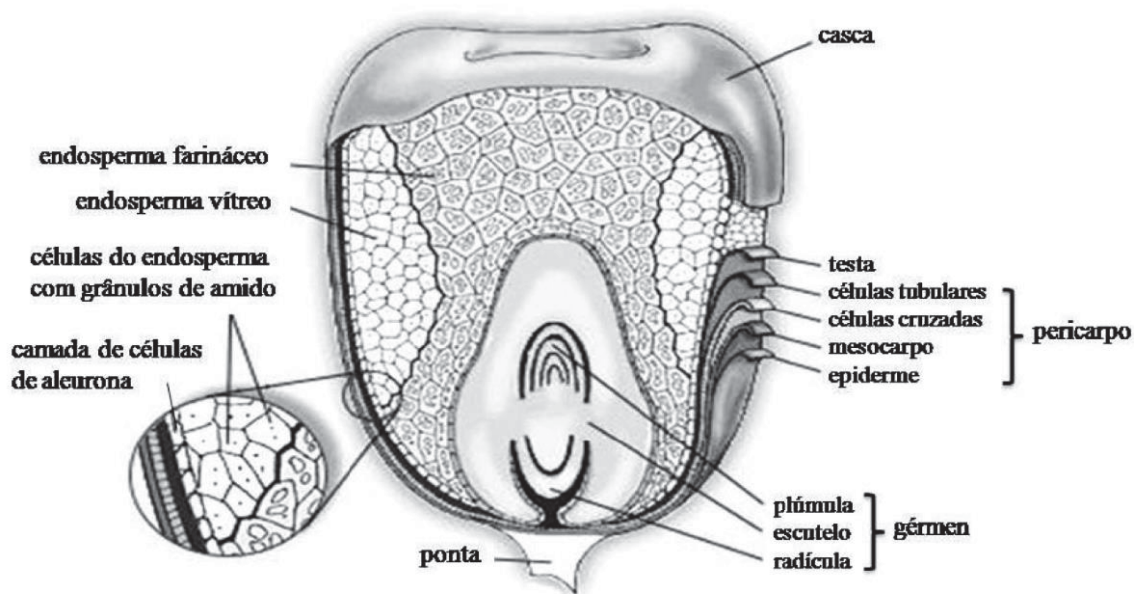


Figura 1. Representação da estrutura física do grão de milho e suas frações (Encyclopaedia Britannica, 1996).

De maneira geral, a composição do milho normalmente corresponde a 80% de carboidratos, dos quais 70 a 80% são amido, 10 a 30% PNA e 1 a 3% mono e oligossacarídeos (Bach Knudsen, 1997). Dessa maneira, se o milho é o principal constituinte das dietas de aves, suprimindo a maior fração da energia, oriunda essencialmente do amido.

Amido

O amido é a principal fonte energética da dieta para frangos de corte, gerando mais da metade da energia metabolizável aparente (Weurding et al., 2003). É um polissacarídeo, composto por polímeros de glicose, os quais estão distribuídos dentro do grânulo como estruturas denominadas de amilose e amilopectina (Isaksen et al., 2011). A amilose é constituída por cadeia linear de glicose ligadas por ligações do tipo alfa-1-4, compondo cerca de 20 a 30% do grânulo de amido, conforme figura 2. A amilopectina também apresenta em sua composição cadeia linear de glicose ligadas por ligações do tipo alfa 1-4, porém, na sua estrutura estão presentes ramificações com ligações alfa-1-6, compõe os 70 a 80% do amido restante, figura 2.

Apesar de somente conter ligações alpha-glicosídicas que são potencialmente hidrolisadas pelas enzimas digestivas secretadas pelo trato digestório da ave (Englyst e Hudson, 1996), a relação entre esses dois compostos (amilose e amilopectina) pode interferir na digestibilidade do amido. Isso porque a amilose, por ser uma cadeia linear, pode formar a dupla hélice perfeita com pontes de hidrogênio de alta coesão entre as moléculas (Burléon et al., 1998), dificultando a entrada de enzimas. Isso foi observado por Zhang et al. (2006), que relataram menor aproveitamento do amido com maior grau de organização do grânulo. Por outro lado, a amilopectina, que apresenta estrutura ramificada, tem menor formação dessas pontes, facilitando a ação de enzimas, podendo promover a melhora da digestibilidade. Portanto, quanto maior a proporção dessas cadeias ramificadas, maior a facilidade de acesso de enzimas e consequentemente maior digestibilidade.

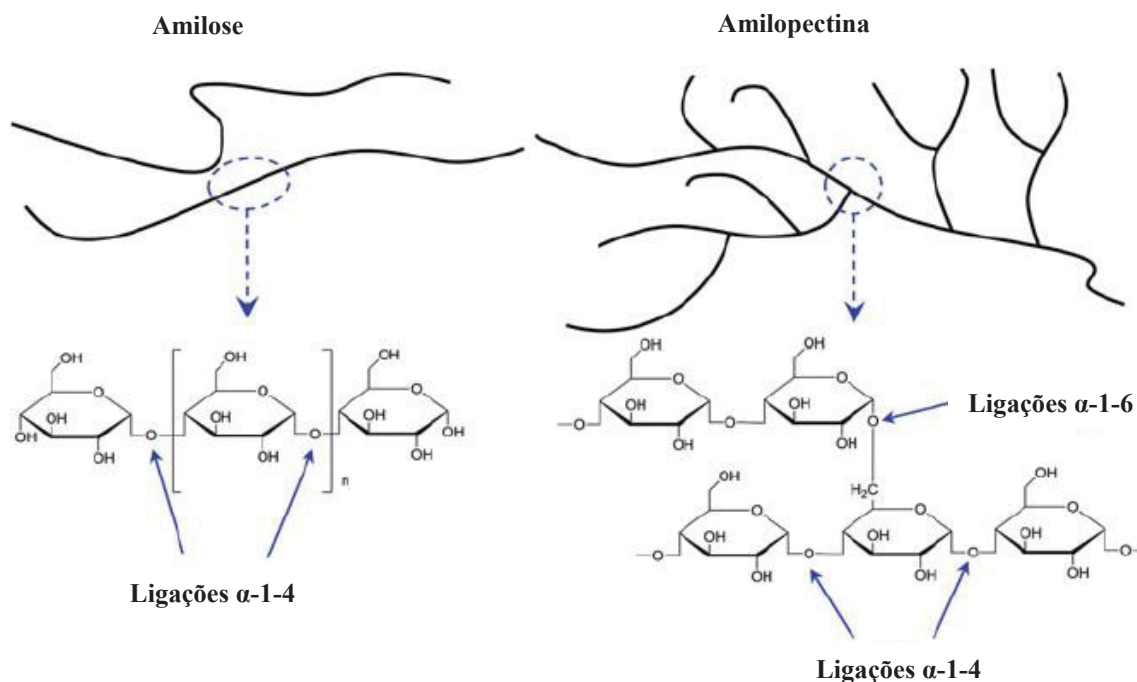


Figura 2. Estrutura química e as diferenças entre as ligações da amilose e da amilopectina, moléculas do amido (Xie et al., 2014).

Em seu estado natural, o amido tem organização complexa e grandes estruturas, formando regiões amorfas e cristalinas alternadas (Svihus, 2014), conforme figura 3. Normalmente a região amorfa é formada pela fração ramificada da amilopectina, enquanto que a região cristalina é a parte linear da amilopectina e da amilose (Svihus, 2014). Na fração cristalina pode se formar pontes de hidrogênio com elevado grau de coesão entre as moléculas, dificultando o acesso de enzimas digestivas ao substrato. Dessa maneira, o grau de cristanilização do amido é inversamente proporcional à digestibilidade (Björck et al., 2000).

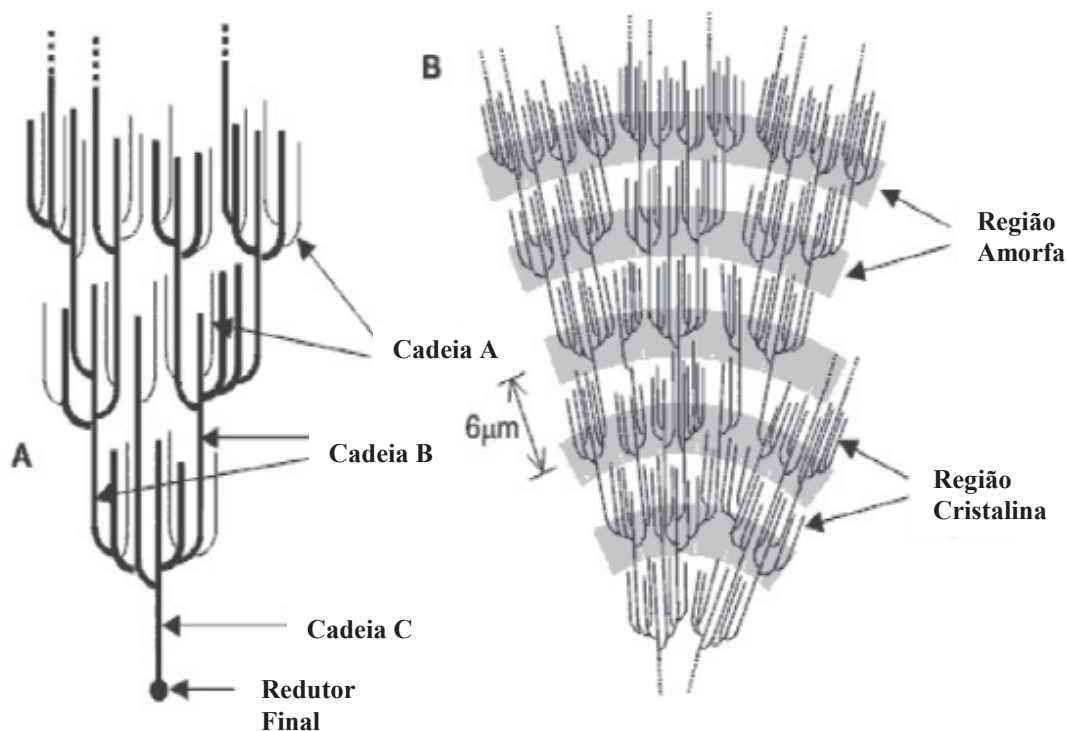


Figura 3. Demonstração esquemática das regiões amorfa e cristalina do grânulo de amido (Parker e Ring, 2001).

O amido pode ser dividido em duas frações o amido glicêmico e o amido resistente (AR) (Walter et al., 2005). Em função dos fatores supracitados, o AR, seria o amido que resiste a digestão enzimática no intestino delgado sendo fermentado pelas bactérias das frações finais do intestino (Yue e Waring, 1998). Na literatura esse AR é dividido em três tipos, o amido resistente tipo 1 (AR1): no qual a forma física do alimento dificulta o acesso das enzimas pancreáticas e consequentemente reduzem a digestibilidade (Englyst et al. 1992). O amido resistente tipo 2 (AR2) é a fração do amido que pode ser dividida em outros três subgrupos: o polimorfo tipo A fração na qual as cadeias externas de amilopectina são curtas com menos de 20 moléculas de glicose. A denominada tipo B, fração com mais de 22 moléculas de glicose. O polimorfo tipo C, o intermediário entre os dois tipos A e B. O grau da resistência do amido depende da fonte, entretanto geralmente tipo B e C apresentam menor digestibilidade (Englyst et al. 1992). O amido resistente tipo 3 (AR3) é o amido resistente em função do processamento. O amido sofre o rompimento da estrutura e a gelatinização em função de calor e umidade, e isso pode aumentar a digestibilidade (Botham et al., 1995). Entretanto, ao resfriar novamente o

amido forma estrutura parcialmente cristalina e resistente a ação enzimática (Englyst et al. 1992; Muir e O’dea, 1992).

Digestibilidade do amido

Apesar do amido ser um composto considerado de elevada digestibilidade em animais monogástricos, o nível de digestibilidade é controverso. Segundo Gracia et al. (2003) essa digestibilidade é de cerca de 95%, entretanto para Soto-Salanova et al. (1996) é de 85%. Essa variação pode ser em função de muitos fatores, que segundo Penz Jr. (1998) podem ser: variedade cultivar, condições de cultivo da planta, arranjo espacial dos polímeros de amido, sendo a amilopectina mais fácil de ser digerida que a amilose. Essa diferença também poderia ser atribuída à metodologia utilizada para a determinação de amido. Rose et al. (1991), comparando diferentes metodologias para determinação de amido, encontraram que as metodologias que utilizam enzimas são mais precisas do que as que utilizam ácidos.

Segundo Rougière et al. (2009), linhagens de frangos de crescimento rápido são menos eficientes em digerir amido que frangos de crescimento lento. Esse fato está principalmente relacionado com a elevada ingestão desses animais de crescimento rápido. O melhoramento genético de frangos de corte para aves mais eficientes em crescimento rápido, resultou em um animal com elevada voracidade (Siegel e Wisman, 1966), sendo que mais de 70% da variação genética de crescimento pode estar correlacionada com o consumo em frangos de corte (Barbato, 1996). Porém essa alta voracidade pode interferir na digestibilidade das frações da dieta, pois a digestão e absorção de nutrientes podem ser influenciadas pela taxa de passagem ao longo do trato (Duke, 1986). E segundo Scott e Siversides (2003), quando a alimentação é restrita, a taxa de passagem é menor podendo melhorar a digestibilidade. Isso também foi relatado por Hughes (2008), que observaram que quando a ingestão é aumentada, o trânsito intestinal é acelerado, podendo reduzir o aproveitamento de energia da dieta. Svihus (2011), observou esse efeito na digestibilidade do amido em que o consumo de ração é inversamente proporcional à digestibilidade, conforme demonstrado pela figura 4.

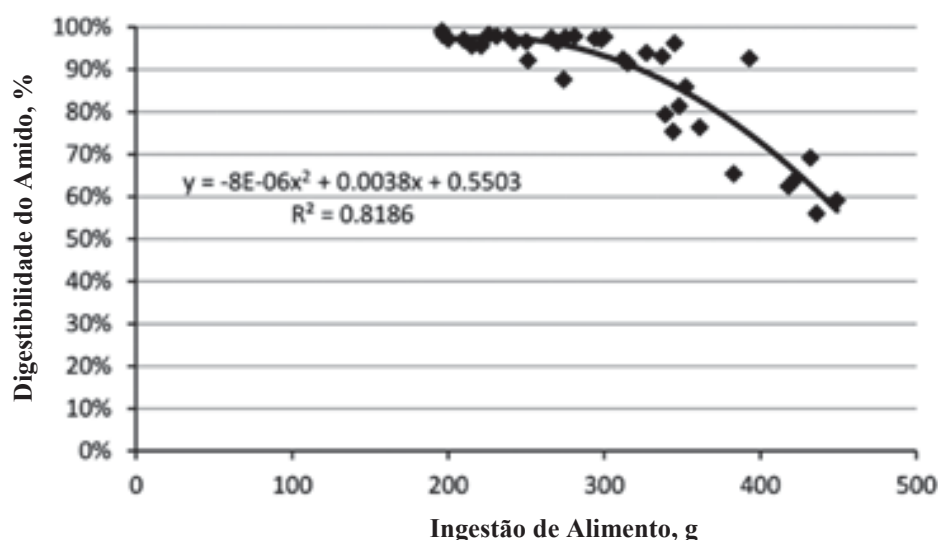


Figura 4. Relação entre ingestão de alimento e a digestibilidade de amido em frangos de corte (Adaptado de Svihus, 2011)

Considerando o desenvolvimento inicial de pintinhos é importante observar que a maior fonte de energia no ovo advém de fontes lipídicas e, logo que os pintinhos eclodem os carboidratos passam a ser sua principal fonte de energia. Somente aos 18 dias de idade no interior do ovo é observado atividade de α -amilase no pintinho (Moran, 1985; Sklan, 2001). Entretanto essa atividade enzimática ainda é muita baixa (Nir et al., 1993) e o aumento da secreção de amilase está ligado ao aumento da ingestão de alimento no início da vida da ave (Moran, 1985). Dessa forma, outro fator que pode limitar a digestão do amido é que em animais jovens as enzimas necessárias para a digestão eficiente poderiam ser uma limitação, reduzindo o potencial de ganho de energia para as aves a partir da hidrólise de amido (Sklan et al., 2003). De maneira geral, em aves a digestão do amido se inicia com a secreção da amilase pancreática que é secretada no duodeno onde transforma o amido em glicose, oligossacarídeos de glicose e dextrina para posteriormente a maltase e isomaltase presentes no epitélio intestinal transformem esses compostos em glicose para serem absorvidos (Isaksen et al., 2011).

Por outro lado, nas fases finais a produção de amilase no pâncreas aumenta cerca de 95% e a ingestão de amido aumenta 200% (Noy e Skan, 1995). Isso pode gerar uma deficiência de enzima nas fases finais. O que corrobora com Mahagna et al. (1995), que afirmam que há redução de digestibilidade conforme o avanço de idade: de 96,7% aos 7 dias para 93,7% aos 21 dias. Segundo Sakamoto (2009), a secreção de amilase pancreática pode ser limitada nas fases iniciais e nas finais, podendo gerar um déficit na

digestibilidade do amido. Dessa maneira a secreção de amilase e a quantidade de alimento ingeridos parecem ser os principais fatores que interferem no aproveitamento do amido. Uma suplementação enzimática exógena poderia suprir essa insuficiência de aparato enzimático, aumentando a digestibilidade e por consequência melhorando o desempenho dessas aves.

Processamento térmico e melhora no aproveitamento das dietas

Atualmente a maioria das dietas para frangos de corte passam pelo processamento térmico, principalmente pela peletização. O processamento de rações é o conjunto de operações feitas com os ingredientes com a finalidade de maximizar o potencial dos alimentos alterando seu estado natural. Segundo Esminger (1985), dentre os propósitos do processamento estão a alteração no tamanho de partículas, no conteúdo de umidade, da palatabilidade, da densidade do alimento, do conteúdo de ingredientes, da digestibilidade dos nutrientes e para remoção de substâncias antinutricionais, visando melhorar a qualidade dos ingredientes.

A peletização é o principal processamento térmico utilizado na avicultura contemporânea. Esse processamento consiste em submeter ingredientes ou mistura a uma combinação de umidade, pressão e temperatura (70 a 90°C), gerando aglomerados formando estruturas maiores denominadas peletes. Em função da temperatura e da umidade empregada nesse processo, pode haver a gelatinização do amido, podendo trazer vantagens para a digestibilidade (Tester et al., 2004). Nessa reação, os grânulos de amido incham resultando na ruptura da estrutura granular (Bello-Pérez et al., 2006), o que pode facilitar a atuação de enzimas digestivas e por consequência melhorar a digestibilidade (Carré, 2004). Entretanto em alguns estudos tem sido reportado que, em função da limitada quantidade de umidade e da moderada temperatura, a peletização, proporciona apenas de 5 a 30% de gelatinização (Svihus et al., 2004; Moritz et al., 2005; Zimonja e Svihus, 2009). Cramer et al. (2003) não observaram efeitos na digestibilidade do amido em dietas peletizadas. Concordando com esses resultados, Zimonja and Svihus (2009) também não encontraram melhora na digestibilidade do amido como consequência da peletização. Dessa maneira, o processamento térmico com limitação de temperaturas e umidade pode não gelatinizar o amido de maneira satisfatória.

Por outro lado, quando é realizado um super processamento das dietas, podem ocorrer alterações indesejáveis na estrutura dos ingredientes utilizados, como formação de amido resistente (Voragen et al., 1995), reações de complexação entre proteínas e

carboidratos (Creswell e Bedford, 2006) e redução da estabilidade de enzimas e vitaminas adicionadas na dieta (Campbell e Bedford, 1992). Além disso, conforme mencionado anteriormente, ao resfriar-se, o amido pode reorganizar o grânulo e formar estrutura resistente a ação enzimática (Englyst et al. 1992; Muir e O'Dea, 1992).

A peletização também favorece aumento no consumo das dietas (Meinerz et al., 2001; Svihus et al., 2004; Abdollahi et al., 2013). Isso é justificado principalmente pela facilidade de apreensão da dieta em função da sua forma física (Jensen et al., 1962). A facilidade de ingestão também faz com que frangos de corte gastem menos tempo consumindo ração peletizadas e apresentam maior frequência de descanso em comparação àquelas que consomem dietas fareladas (Mckinney and Teeter, 2004). No entanto, Svihus e Hetland (2001), avaliando o efeito de dietas peletizadas na digestibilidade do amido, relataram que uma das consequências negativas do aumento do consumo proporcionado pelas dietas peletizadas é a redução da digestibilidade do amido.

Enzimas

Os frangos aproveitam de 75 a 85% do que ingerem em função dos alimentos apresentarem em sua composição compostos indigestíveis, fatores antinutricionais e outros fatores que interferem no processo digestivo que dificultam a atuação de enzimas endógenas (Barletta, 2011). Dessa maneira, 15 a 25% da dieta não é digerida, havendo potencial de melhora, uma oportunidade para utilização de enzimas exógenas.

As enzimas digestivas são proteínas que atuam como catalizadores biológicos sobre substratos específicos, acelerando as reações, aumentando assim, a digestibilidade de nutrientes específicos das matérias primas ou da ração como um todo (Zanella, 1999). Na década de 50, pesquisadores iniciaram avaliações sobre o uso de enzimas na dieta de animais de produção, com finalidade de melhoria de produtividade (Adeola e Cowieson, 2011). As primeiras enzimas exógenas foram adicionadas a dietas de animais com intuito de reduzir os efeitos de polissacarídeos não amiláceos (PNA) como os arabinosilanos e os beta-glucanos de dietas à base de trigo, tritcale, cevada e centeio (Choct et al., 2004). Entretanto, normalmente dietas à base de milho e farelo de soja são consideradas de baixa viscosidade (Choct, 1997; Gracia et al., 2003), portanto a utilização dessas enzimas era questionável. Porém, a partir da década de 90, surgiram as fitases que não só melhoram a disponibilidade do fósforo fítico, mas também reduziram sua excreção no ambiente (Barletta, 2011). Segundo o mesmo autor, essas enzimas além de disponibilizarem o fósforo fítico aumentam o aproveitamento da energia e da proteína.

Atualmente existem muitas enzimas disponíveis no mercado para a nutrição animal com diferentes objetivos e substratos como fitases, carboidrases, proteases e outras enzimas. Contudo, mesmo atuando de maneira distinta todas as enzimas são adicionadas às dietas com a finalidade de melhorar a digestibilidade.

A suplementação de complexo enzimático contendo amilase, protease e xilanase em dietas a base de milho e farelo de soja melhora o desempenho zootécnico de frangos (Zanella et al., 1999). Aftab (2012), em uma revisão sobre carboidrases encontrou que a energia metabolizável das dietas contendo diversos tipos de carboidrases isoladas ou complexos multienzimáticos de carboidrases apresentavam aumento de 1,6 a 6,2 %. A suplementação de protease também acarretou em melhora no desempenho das aves e no aumento de digestibilidade de aminoácidos, conforme discutido por Lee et al. (2018) em uma revisão sobre a utilização de proteases na nutrição animal. Os benefícios da utilização de enzimas são amplamente difundidos na literatura (Mahagna et al., 1995; Zanella et al., 1999; Douglas et al., 2000; Gracia et al., 2003; Cowieson, 2005; Cowieson e Bedford, 2009; Romero et al., 2013; Olukosi et al., 2010; Stefanello et al., 2015; Amerah et al., 2017; Yuan et al., 2017).

Atualmente estuda-se novas enzimas e suas interações com a dieta bem como com outras enzimas. Segundo Adeola e Cowieson (2011), na atuação de enzimas combinadas, as enzimas não atuam sobre o mesmo substrato, mas podem liberar substrato a outra enzima, tornando o efeito mutuamente benéfico. Isso pode ocorrer com as proteases, amilases e celulasas que liberando o fitato e outros nutrientes, podendo facilitar a atuação da fitase e de outras enzimas (Tejedor et al., 2001). Isso foi demonstrado por diversos trabalhos na literatura, nos quais foram encontrados maiores benefícios das enzimas quando atuam de maneira conjunta do que individualmente (Juanpere et al., 2005; Meng et al., 2005; Olukosi et al., 2010). Por outro lado, estudando, a combinação de carboidrases com proteases, foi observado que a atividade das carboidrases foi reduzida (Saleh et al., 2005). Isso pode indicar que a carboidrases foi hidrolisada pela protease. Dessa maneira a atuação das enzimas de forma conjunta pode causar respostas diversas no animal. Segundo Adeola e Cowieson (2011), essas respostas podem ser de três maneiras: o somatório de efeitos isolados das enzimas; efeito acima do somatório e efeito menor do que o somatório, conforme figura 5.

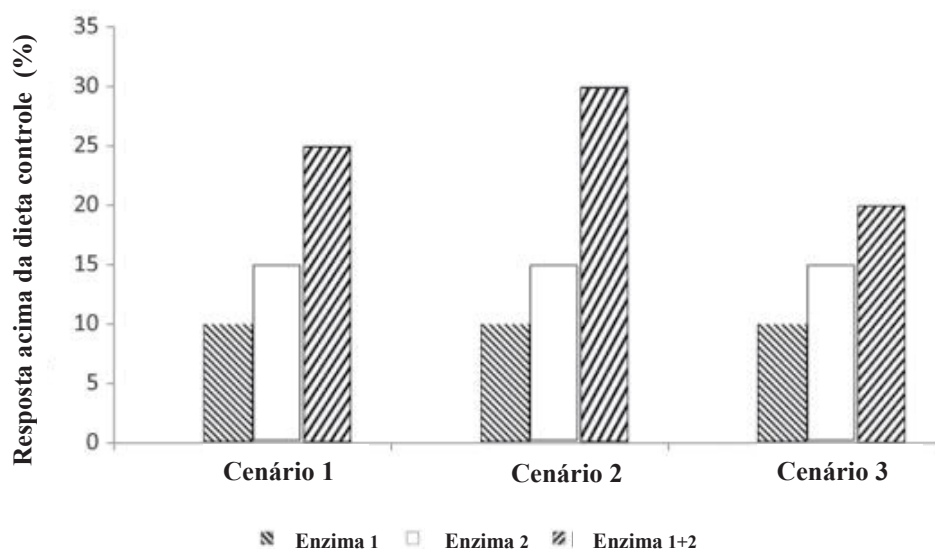


Figura 5. Interação das respostas de enzimas na nutrição animal (Adeola e Cowieson, 2011).

Entretanto, apesar de haver na literatura muitos estudos com complexos multienzimáticos, antes de estudar as interações de enzimas, deve-se verificar os efeitos da enzima isolada. Nesse sentido vale a discussão sobre a amilase na nutrição de frangos de frangos.

Amilase

Apesar da amilase ser produzida pelos animais (Tester et al., 2004) o amido não é integralmente digerido pelas aves (Noy and Sklan, 1995; Meng et al., 2005). Dessa forma, há um potencial para a suplementação de amilase exógena, que tem como objetivo complementar a atuação de enzimas endógenas.

Desde a década de 50 até hoje tem sido demonstrado efeitos positivos da suplementação de complexos enzimáticos contendo amilase (Jensen et al., 1957; Burnett, 1966; Zanella et al., 1999; Douglas et al., 2000; Meng et al., 2005; Stefanello et al., 2015). Alguns estudos mais recentes também têm demonstrado os efeitos da utilização da amilase isolada, sem outras enzimas (Gracia et al., 2003; Jiang et al., 2008; Kaczmarek et al., 2014; Stefanello et al., 2015; Amerah et al., 2017; Yuan et al., 2017). A maioria da amilase suplementada na nutrição é a α -amilase produzida de *Bacillus sp.* e essa enzima hidrolisa α -1-4 no interior do grânulo de amido (Isaksen et al., 2011). Entretanto existem enzimas para a hidrólise das ligações α -1-6, porém sua suplementação ainda é controversa. Segundo Huang et al. (2014) a α -1,6 isoamilase melhora a digestibilidade, a EMA e o desempenho de frangos. Entretanto, Yuan et al. (2017) comparando diferentes amilases, não encontraram efeitos positivos da α -1,6 isoamilase. Por outro lado, a

suplementação da α -amilase tem mostrado benefícios (Gracia et al., 2003; Jiang et al., 2008; Kaczmarek et al., 2014; Romero et al., 2014; Stefanello et al., 2015; Amerah et al., 2017; Yuan et al., 2017). A enzima amilase aumenta a digestibilidade da matéria orgânica e do amido e por consequência a EMA de dietas a base de milho e farelo de soja (Gracia et al., 2003; Kaczmarek et al., 2014; Stefanello et al., 2015; Amerah et al., 2017). Também melhora o ganho de peso e a conversão alimentar (Gracia et al., 2003; Onderci et al., 2006; Jiang et al., 2008; Kaczmarek et al., 2014; Stefanello et al., 2015; Yuan et al., 2017). Além disso, também alteraram a fisiologia do animal, aumentando a secreção de enzimas da mucosa intestinal em função da maior quantidade de compostos gerados pela hidrólise do amido que são substratos para essas enzimas (Jiang et al., 2008; Yuan et al., 2017). Podendo também proporcionar aumento da altura dos vilos (Ritz et al., 1995; Onderci et al., 2006).

Alguns autores afirmam ainda que a suplementação de amilase exógena poderia reduzir a produção de amilase endógena, como resultado de feedback negativo da suplementação da enzima (Mahagna et al., 1995; Jiang et al., 2008). Segundo Vonk e Western (1984), a amilase endógena tem concentração elevada de ácido aspártico, glicina, ácido glutâmico, serina, valina e arginina. Dessa maneira, com a redução da secreção dessa enzima a ave poderia poupar esses aminoácidos, resultando em maior concentração desses aminoácidos para outras funções metabólicas da ave.

Por outro lado, não foram encontrados benefícios na suplementação de complexo enzimático na dieta contendo amilase e protease no desempenho e na digestibilidade em frangos de 1 a 14 dias de idade (Mahagna et al., 1995). Outros autores também não encontraram benefícios da enzima isolada (Kaczmarek et al., 2014; Yuan et al., 2017). Esses resultados contraditórios devem-se ao fato do efeito da amilase ser influenciado por muitos fatores relatados na literatura como: idade da ave (Cowieson, 2005); origem da amilase (Gracia et al., 2003; Yegani e Korver, 2013; Yuan et al., 2017); dose da enzima (Cowieson, 2005; Gracia et al., 2003; Jiang et al., 2008; Zhang et al., 2012; Yuan et al., 2017); tamanho de partícula da dieta (Kaczmarek et al., 2014) e tipo do milho (Yegani e Korver, 2013; Kaczmarek et al., 2014).

CONCLUSÃO

Apesar de apresentar alta digestibilidade, a utilização do amido em dietas a base de milho e farelo de soja ainda pode ser melhorado através do processamento da dieta e

com a utilização de enzimas, principalmente a amilase. Entretanto, a enzima deve ser melhor estudada para entender as interações com compostos presentes na dieta e seus efeitos nas diferentes frações do amido bem como o seu efeito no milho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdollahi, M. R., V. Ravindran, and B. Svihus. 2013. Influence of grain type and feed form on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of nitrogen, starch, fat, calcium and phosphorus in broiler starters. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186:193-203.
- Adeola, O., and A. J. Cowieson. 2011. Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve non-ruminant animal production. *J. Anim. Sci.* 89:3189–3218.
- Aftab, U. 2012. Exogenous carbohydrase in corn-soy diets for broilers. *World's Poultry Science Journal*. v.68, p.447-464, 2012.
- Amerah, A.M., et al. 2017. Effect of exogenous xylanase, amylase, and proteases as single or combined activities on nutrients digestibility and growth performance of broilers fed corn/soy diets. *Poultry Science*. 96:807-816.
- Bach Knudsen, K. E. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 67:319–338.
- Barbato, GF. 1996. Genetic control of food intake in chickens. *Journal of Nutrition* 124: 1341s-1348s.
- Barletta, A. Introduction: Current market and expected developments. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. 2011. Cap.4, p.85-95.
- Bello-Pérez, L.A., M.G.M. Montealvo, E.A. Acevedo (2006) Almidón: defenición, estrutura y propiedades. In: *Carbohidratos em alimentos regionals iberoamericanos*. São Paulo: Edusc, 2006. Cap. 1, p.17-46.
- Botham, R.L. et al. 1995. A physicochemical characterization of chick pea starch resistant to digestion in the human small intestine. *Carbohydr Polym.* 26, 83-90.
- Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S., 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *Int. J. Biol. Macromol.* 23, 85–112.
- Burnett, G. S. 1966. The effect of damaged starch, amylolytic enzymes, and proteolytic enzymes on the utilization of cereals by chickens. *Br. Poult. Sci.* 3:89–103.

- Campbell, G.L., Bedford, M.R. Enzyme applications for monogastric feeds: A review. Canadian Journal of Animal Science, v.72, p.449-466, 1992.
- Carré B. Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs. World Poult Sci J. 2004;60:76–89.
- Carvalho NM, Nakagawa J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4 ed. Jaboticabal: FUNEP, 2000. 588p.
- Choct, M. et al. 2004. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. Br. J. Nutr. v.92, p.53-61.
- Choct, M. 1997. Feed non-starch polysaccharides: chemical structures and nutritional significance. Feed Milling International. June, p.13-26.
- Cowieson, A., and M. Bedford. 2009. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acid digestibility in monogastric diets: Complimentary mode of action? World's Poult. Sci. J. 65:609– 624.
- Cowieson, A. J., and O. Adeola. 2005. Carbohydrase, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. Poult. Sci., 84: 1860-1867.
- Cowieson, A.J., 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. Anim. Feed Sci. Technol. 119, 293–305.
- Cramer, K. R., K. J. Wilson, J. S. Moritz, and R. S. Beyer. 2003. Effect of sorghum-based diets subjected to various manufacturing procedures on broiler performance. J. Appl. Poult. Res. 12:404–410.
- Creswell, D., Bedford, M. High pelleting temperatures reduces broiler performance. In: Australian Poultry Science Symposium, Anais... p. 1-6, 2006.
- Douglas, M.W., et al. 2000. Effect of various soybean meal sources and avizyme on chick growth performance and ileal digestible energy. J. Appl. Poul. Res. 9:74-80.
- Duke, G.E., 1986. Alimentary canal: Anatomy, regulation of feeding and motility. In: Avian Physiology. Ed: P.D. Sturkie. New York, Springer Verlag, pp. 269-288.
- Englyst, H.N. et al. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. Eur J Clin Nutr. 46, 33-50.
- Englyst, H.N.; Hudson, G.J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. Food Chem, v.57, n.1, p.15-21, 1996.
- Encyclopaedia Britannica. Ultimate reference suite. São Paulo, 1 CD-ROM. 2006.
- <https://www.britannica.com/plant/corn-plant> acesso em fevereiro de 2018.

- Esminger, M.E. Processing effects. In: Feed Manufacturing Technology III. AFIA. Cap. 66. p. 529-533, 1985.
- Gracia, M.I. et al. 2003. α -amilase supplementation of broiler diets based on corn. World's Poultry Science Journal. 82, 436-442.
- Huang, Z. et al. 2014. Effects and mechanism of isoamylase additive on growth performance in broilers. Siliang Gongye. 35:1-5.
- Hughes, R. J. 2008. Relationship between digesta transit time and apparent metabolisable energy value of wheat in chickens. Br. Poult. Sci. 49:716-720.
- Isaksen, M. F. et al. Starch- and Protein-degrading Enzymes: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. Enzymes in Farm Animal Nutrition. 2.ed. 2011. Cap.4, p.85-95.
- Jensen, L. S., et al. 1957. Improvement in the nutritional value of barley for chicks by enzyme supplementation. Poult. Sci. 36:919-921.
- Jensen L. S., et al. 1962. Observations on eating patterns and rate of food passage of birds fed pelleted and unpelleted diets. Poultry Science, 41:1414-1419.
- Jiang, Z., et al. 2008. Effects of different levels of supplementary alpha-amylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers. Asian-Austral. J. Anim. Sci. 21:97-102.
- Juanpere, J., et al. 2005. Assessment of potential interactions between phytase and glycosidase enzyme supplementation on nutrient digestibility in broilers. Poultry Science, 84:571-580.
- Kaczmarek, S. A., et al. 2014. The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. Poult. Sci. 93:1745-1753.
- Lee, S. A., et al. 2018. Meta-analyses: explicit value of mono-component proteases in monogastric diets. Poultry Science, 0:1-8.
- Mahagna, M., I. Nir, M. Larbier, and Z. Nitsan. 1995. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. Reprod. Nutr. Dev. 35, 201-212.

- Mckinney, L.J.; Teeter, R.G. 2004. Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: I. Pellet quality and II. Prediction of consequential formulation dead zones. *Poult. Sci.*, 83:1165-1174.
- Meinerz, C., A. M. L. Ribeiro, A. M. Penz Jr, and A. M. Kessler. 2001. Níveis de energia e peletização no desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte com oferta alimentar equalizada. *Rev. Bras. de Zootec.* 30:2026-2032.
- Meng, X., et al. 2005. Degradation of cell wall polysaccharides by combinations of carbohydrase enzymes and their effect on nutrient utilization and broiler chicken performance. *Poult. Sci.* 84:37–47.
- Moran, E.T. 1985. Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. *Journal of Nutrition.* v.115, p.665-674.
- Moritz, J. S., A. S. Parsons, N. P. Buchanan, W. B. Calvalcanti, K. R. Cramer, and R. S. Beyer. 2005. Effect of gelatinizing dietary starch through feed processing on zero- to three-week broiler performance and metabolism. *J. Appl. Poult. Res.* 14:47–54.
- Muir, J.G.; O'Dea. 1992. Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro. *Am J Clin Nutr.* v.56, p.123-127.
- Nir, I. 1993. Comparative growth and development of the digestive organs and some enzymes in the broiler chicks and egg type chicks after hatching. *British Poultry Science*, Oxford, v. 34, n. 3, p.523-532.
- Noy, Y., Sklan, D. 1995. Digestion and absorption in the young chick. *Poult. Sci.* 74:366-373.
- Olukosi, O.A., et al. 2010. Broiler individually or in combination in Ven Cobb broiler responses to supplementation of phytase and admixture of carbohydrases and protease in maize-soyabean meal diets with or without maize distillers' dried grain with solubles. *Br. Poult. Sci.*, 51: 434-443.
- Onderci, M., N. Sahin, K. Sahin, G. Cikim, A. Ayd'ın, I. Ozercan, and S. Ayd'ın. 2006. Efficacy of supplementation of α -amylase-producing bacterial culture on the performance, nutrient use, and gut morphology of broiler chickens fed a corn-based diet. *Poult. Sci.* 85:505–510.
- Parker, R.; Ring, S.G. Aspects of the physical chemistry of starch. *Journal of Cereal Science*, v.34, p.1-17, 2001.
- Penz Jr., A.M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. Anais...Botucatu-SP, 1998, p.165-178.

- Ritz, C. W., R. M. Halet, B. B. Self, and D. M. Denbow. 1995. Endogenous amylase levels and response to supplementation feed enzymes in male turkeys from hatch to eight weeks of age. *Poult. Sci.* 74:1317–1322.
- Rougière N, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Carré B. 2009. Effects of diet particle size on digestive parameters in D+ and D– genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency. *Poult Sci* 88(6): 1206–1215.
- Romero, L. F., J. S. Sands, S. E. Indrakumar, P. W. Plumstead, S. Dalsgaard, and V. Ravindran. 2014. Contribution of protein, starch, and fat to the apparent ileal digestible energy of corn- and wheat-based broiler diets in response to exogenous xylanase and amylase without or with protease. *Poult. Sci.* 93:2501–2513.
- Rose, R., C. L. Rose, S. K. Omi, K. R. Forry, D. M. Durall, W.L. Bigg. 1991. Starch Determination by Perchloric Acid vs Enzymes: Evaluating the Accuracy and Precision of Six Colorimetric Methods. *J. Agric. Food Chem.* W1, 39, 2-11.
- Sakamoto, M.I. Performance, development and enzymatic activity of the intestinal mucosa of broiler chickens fed with diets supplemented with glutamine and nucleotides [thesis]. Pirassununga (SP): Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo; 2009.
- Saleh , F. , A. Ohtsuka, and K. Hayashi. 2005. Effect of dietary enzymes on the ileal digestibility and abdominal fat content in broilers. *Anim. Sci. J.* 76:475–478.
- Scott, T.A. and Silversides, F.G. (2003). Defining the effects of wheat type, water inclusion level, and wet–diet restriction on variability in performance of broilers fed wheat–based diets with added water. *Canadian Journal of Animal Science* 83, 265–72.
- Siegel P.B.; E.L. Wisman. 1966. Selection for body weight at eight weeks of age. Changes in appetite and feed utilization. *World's Poultry Science Journal* 45:1391-1397.
- Sklan, D. et al. 2003. Ontogeny of brush border carbohydrate digestion in the chick. *Br. J. Nutr.* 89,747–753.
- Sklan, D. 2001. Development of the digestive tract of poultry. *World's Poultry Science Journal* v.57, p.415-428.
- Soto-Salanova, M.F., Garcia, O., Graham, H. et al. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. Anais...Curitiba:Facta, 1996. p.71-76.

- Stefanello, C. et al. 2015. Starch digestibility, energy utilization and growth performance of broilers fed cornsoybean basal diets supplemented with enzymes. *Poult. Sci.* 94, 2472–2479.
- Svihus, B. 2011. Limitations to wheat starch digestion in growing broiler chickens: A brief review. *Anim. Prod. Sci.* 51:583–589.
- Svihus, B., and H. Hetland. 2001. Ileal starch digestibility in growing broiler chickens fed on a wheat-based diet is improved by mash feeding, dilution with cellulose or whole wheat inclusion. *Br. Poult. Sci.* 42:633–637.
- Svihus, B., et al. 2004. Nutritional effects of pelleting of broiler chicken diets made from wheat ground to different coarsenesses by the use of roller mill and hammer mill. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117:281–293.
- Svihus, B. 2014. Starch digestion capacity of poultry. *Poultry Science* 93 :2394–2399.
- Tejedor, A. A., et al. 2001. Efeito da adição de enzimas em dietas de frangos de corte à base de milho e farelo de soja sobre a digestibilidade ileal de nutrientes. *Rev. bras. zootec.*, 30(3):809-816.
- Tester, R. F., J. Karkalas, and X. Qi. 2004. Starch—Composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 39, 151–165.
- Voragen, A.G.J., et al. 1995. Effect of some manufacturing technologies on chemical, physical and nutritional properties of feed. In: *Recent Advances in Animal Nutrition*. Nottingham: University Press,.
- Vonk, H. J.; Western, I. R. H. Comparative biochemistry and physiology of enzymatic digestion. London: Academic, 1984.
- Xie, F. et al. 2014. Advanced nano-biocomposites based on starch. In: RAMAWAT, K.G., MÉRILLON, J.M. *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology* Publisher: Springer International. 1 ed. 2014. Cap. 1, p.1-75.
- Walter M., et al. 2005. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologia de quantificação. *Ciência Rural*, Santa Maria, 35:4 p.974-980.
- Watson, S.A. 1987. Structure and composition. In: *Com: chemistry and technology*. S.A. Watson and P.T. Ramstad, eds. Am. Assoe. Cereal Chem. St. Paul, MN. pp. 53-82.
- Weurding, R.E. et al. 2003. The effect of site of starch digestion on performance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 110, 175-184.

- Yuan, J., et al. 2017. Effect of different amylases on the utilization of cornstarch in broiler chickens. *Poultry Science*. 96: 1139-1148.
- Yegani, M., and D.R. Korver. 2013. Effects of corn source and exogenous enzymes on growth performance and nutrient digestibility in broiler chickens. *Poult. Sci.* 92:1208–12.
- Yue, P.; Waring, S. 1998. Resistant starch in food applications. *Cereal Food World*, 43:9, p.690-695.
- Zanella, I. et al. 1999. Effect of Enzymes Supplementation of Broiler Diets Based on Corn and Soybeans. *Poultry Science*. v. 78, p.561-568.
- Zimonja, O., and B. Svihus. 2009. Effects of processing of wheat or oat starch on technical pellet quality and nutritional value for broilers. *Anim. Feed Sci. Technol.* 149:287–297.
- Zhang, G., Z. Ao, and B. R. Hamaker. 2006. Slow digestion property of native cereal starches. *Biomacromolecules* 7:3252–3258.
- Zhang, G. G., et al. 2012. A multienzyme preparation enhances the utilization of nutrients and energy from pure corn and wheat diets in broilers. *J. Appl. Poult. Res.* 21:216–225.

CAPÍTULO 2. Amilase melhora a digestibilidade de dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte

AMILASE MELHORA A DIGESTIBILIDADE

Amilase melhora a digestibilidade de dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte

V. G. Schramm^{*1}, A. Massuquetto^{*}, J.O.B. Sorbara[†], A. Cowieson[§], A. P. Félix^{*} and A. Maiorka^{*}

^{*}Department of Animal Science, Federal University of Paraná, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, UFPR. Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, Brazil; [†]DSM Nutritional Products, Av. Engº Billings, 1729, São Paulo, SP, Brazil; [§]DSM Nutritional Products, Wurmisweg 576, 4303 Kaiseraugst, Switzerland

¹Corresponding author: schrammvgs@gmail.com

Vinícius Gonsales Schramm – Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, UFPR. Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, Brazil. CEP 82050-035 .Tel +0055 41 97163019

Scientific section: Metabolism and Nutrition

RESUMO O amido é a principal fonte de energia das dietas de frangos de corte, entretanto há uma fração não aproveitada pelas aves. Sabe-se também que quanto antes o amido é digerido no trato maior será o seu aproveitamento, resultando em mais energia para a ave. Com a suplementação de amilase na dieta pode-se otimizar a digestibilidade do amido. Dessa forma, objetivou-se avaliar a digestibilidade das frações do amido, a matéria seca (MS) e a EMA de dietas à base de milho e farelo de soja e no milho no jejuno e íleo com a inclusão de níveis crescentes de amilase para frangos de corte. Os tratamentos experimentais (dietas ou milho) continham cinco níveis crescentes de inclusão de amilase (0; 40; 80; 120 e 160 KNU/kg). Foi avaliada a digestibilidade do conteúdo do jejuno (CDj) e do íleo (CDi) para amido disponível (AD), amido resistente (AR) e amido total (AT) e da MS, a retenção total do trato (RTT) da MS, e a energia metabolizável aparente (EMA) das dietas. Foram encontradas interações ($P < 0,05$) entre tipo de dieta e enzima na CDj da MS e na EMA, em que o resultado da enzima foi mais expressivo no milho do que na dieta completa. A enzima aumentou a CDi do AR e da RTT da MS ($P < 0,05$). Para todas as variáveis, com exceção do AD, a digestibilidade do milho foi superior ($P < 0,05$). Foi encontrado aumento linear na CDj da MS, CDi do AR, RTT da MS e na EMA com a inclusão da amilase. Utilizando Linear Response Plateau, verificou-se que a amilase na dieta em dose de 80 KNU/kg pode aumentar em 64 kcal a EMA. E no milho, onde a resposta é mais expressiva, as doses variam de 47 a 120 KNU/Kg, podendo gerar até 332 Kcal/kg aos 25 dias de idade de frangos de corte. Dessa maneira, conclui-se que amilase aumenta a digestibilidade e a EMA das dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte aos 25 dias de idade, em função da abundância de substrato, no milho esse aumento ainda é maior.

Palavras-chave: Enzima, LRP, digestibilidade do amido, amido resistente.

INTRODUÇÃO

O milho e o farelo de soja, são atualmente os principais componentes energéticos das dietas de frangos de corte, gerando mais da metade da energia metabolizável aparente (EMA) (Weurding et al., 2003). O milho possui em sua estrutura aproximadamente 69% de amido (Bach Knudsen, 1997), sendo por consequência, a fonte mais importante de energia para a nutrição animal. Entretanto, esse composto nem sempre é aproveitado eficientemente, devido à diversos fatores como estrutura do amido, possível limitação de produção de enzima endógena pelo frango de corte e o processamento da dieta.

Os grânulos de amido são compostos basicamente por amilose e amilopectina, e sua relação influencia a digestibilidade dos carboidratos, pois a amilopectina é mais facilmente digerida que a amilose (Moran, 1982; Rooney e Pflugfelder, 1986). Isso ocorre em função da amilose formar a dupla hélice perfeita (pontes de hidrogênio) com alta coesão entre as moléculas e pode dificultar a ação enzimática, por consequência também prejudica a digestão. Por outro lado, a amilopectina tem cadeia mais ramificada, facilitando o acesso de enzimas e melhorando a digestibilidade. A fração do amido que passa pelo intestino delgado sem ser digerida pode ser chamada de amido resistente (AR; English et al., 1982), e isso pode influenciar o teor de energia das matérias primas (Tester et al., 2004).

Normalmente, o AR é dividido em três grupos, o amido resistente tipo 1 (AR1), tipo 2 (AR2) e o tipo 3 (AR3) (Englyst et al., 1992). O AR1 em que a estrutura física do alimento dificulta o acesso das enzimas pancreáticas e, conseqüentemente, apresenta menor digestibilidade. O AR2: é a fração do amido que em função da estrutura química tem menor aproveitamento, e pode ser dividido em outros três subgrupos: polimorfo tipo A, B e C. O polimorfo tipo A é a fração na qual as cadeias externas de amilopectina são curtas, com menos de 20 moléculas de glicose. O tipo B é a fração com mais de 22

moléculas de glicose. O polimorfo tipo C é o intermediário entre os dois tipos A e B. O grau da resistência do amido depende da fonte, entretanto, geralmente os tipos B e C apresentam menor digestibilidade (Englyst et al., 1992). E o AR3 é formado após o resfriamento do amido gelatinizado. O amido, quando submetido a altas temperaturas e umidade sofre o rompimento da sua estrutura e a gelatinização, e isso pode aumentar a digestibilidade (Botham et al., 1995). Porém, com o resfriamento, o amido forma novamente sua estrutura parcialmente cristalina e resistente à ação enzimática (Englyst et al., 1992; Muir e O'dea, 1992). Dessa maneira, a maior formação desse composto na dieta torna o amido menos disponível ao animal.

Aproximadamente de 2 a 6% do amido dos grãos de cereais podem ser indigestíveis (Weurding, 2001), e esse composto não digerido acaba servindo como substrato para fermentação por bactérias presentes no trato gerando energia. Apesar de alguns autores apresentarem que cerca a fermentação pode fornecer até 11% da energia metabolizável para frangos (Annison et al., 1968), esse processo é menos eficiente do que a digestão enzimática (Dierick et al., 1989). Em função disso, a digestão rápida ou gradual do amido pode apresentar os mesmos coeficientes de digestibilidade, porém quando é digerido no intestino delgado (jejuno e íleo), apresenta melhor aproveitamento pelo animal para as funções metabólicas (Weurding et al., 2001). Dessa forma, se o amido é digerido pelo processo enzimático na fração proximal (intestino delgado) resulta em mais energia para o frango do que pela fermentação bacteriana no final do trato.

Outra limitação é que em frangos de corte jovens a eficiência da digestão do amido pode ser limitada pela quantidade de enzimas produzidas e pela forma apresentada na dieta (relação entre amilose e amilopectina, concentração de amido resistente, etc.), reduzindo o potencial de ganho de energia a partir da sua hidrólise (Sklan et al., 2003). Uni et al. (1995) relataram que, no 4º dia após a eclosão, a secreção de amilase por grama

de ingestão de alimentos foi baixa, aumentando somente a partir do 7º dia, sendo que, a secreção de amilase para o duodeno aumenta progressivamente até 21 dias de idade (Noy e Sklan, 1995). Normalmente nas dietas da fase final, o milho é incluído em elevadas proporções fazendo com que o teor de amido seja maior quando comparado com as dietas iniciais (Svihus et al., 2014). Porém a produção de amilase no pâncreas não está correlacionada com esse aumento de ingestão de amido (Noy e Sklan, 1995), reduzindo a digestibilidade conforme o avanço de idade (Mahagna et al., 1995). Dessa maneira, a secreção de amilase pancreática pode ser limitada nas fases iniciais e finais diminuindo a digestibilidade do amido (Sakamoto, 2009).

Uma maneira de tentar maximizar o aproveitamento do amido da dieta pelo animal é adicionando amilase exógena. A suplementação da amilase aumenta a digestibilidade do amido e conseqüentemente da matéria orgânica, além de também aumentar a EMA da dieta (Isaksen et al., 2011) e por consequência, melhora o desempenho dos frangos de corte (Gracia et al., 2003). Apesar de existirem trabalhos na literatura demonstrando os efeitos positivos da utilização da amilase em dietas de frangos (Zanela et al., 1999; Gracia et al., 2003; Jiang et al. 2008; Isaksen et al., 2011; Stefanello et al. 2015) não foram encontrados estudos com a amilase monocomponente e seus efeitos isoladamente no milho, avaliando suas diferentes frações do amido. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito de doses crescentes de amilase na digestibilidade a nível de jejuno e ileo das frações do amido em dietas a base de milho e farelo de soja, e isoladamente do milho em frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi previamente aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias.

Animais e local do experimento

Foram utilizados 630 pintos de corte machos da linhagem Cobb® com um dia de idade, no período de 1 a 25 dias de idade, alojados em gaiolas metabólicas de arame galvanizado com dimensões de 0,90 x 0,40 x 0,30 m (c x l x h), equipadas com comedouro e bebedouro tipo calha. Na parte inferior, as gaiolas eram providas de bandejas metálicas, as quais foram forradas com lona plástica, para coleta de excretas. Durante os 5 primeiros dias foi utilizada luz incandescente contínua (24 h) e após esse período foi utilizado programa de luz com 10 horas de escuro por dia. A temperatura foi verificada com auxílio de termômetros duas vezes ao dia, e foi controlada por meio de campânulas a gás, lâmpadas incandescentes e abertura de janelas, mantida ao primeiro dia a temperatura de 31°C e gradativamente sendo diminuída até 22°C aos 21 dias de idade. A ração e a água foram fornecidas à vontade durante todo o período experimental.

Dietas experimentais

Todas as aves receberam a mesma dieta até os 14 dias de idade, sendo iniciado o fornecimento das dietas experimentais no 15º dia. As dietas experimentais foram formuladas adicionando 1% de cinza insolúvel ácida (CIA) como marcador indigestível, conforme a Tabela 1. Para o ensaio de digestibilidade das dietas, foram adicionados cinco níveis crescentes de amilase na dieta (0; 40; 80; 120 e 160 KNU/kg). Uma KNU é a quantidade de enzima que libera em uma reação em duas etapas, 6 µmol p-nitrofenol por minuto a partir de 1,86 mM de etiledeno-G7-p-nitrofenil-maltoheptaosídeo em pH 7,0 e 37°C. Para o cálculo de digestibilidade do milho, foi utilizado o método de substituição parcial, no qual 40% da dieta foi substituída por milho, cuja composição está apresentada

na Tabela 3. Após a substituição, foram adicionadas as mesmas 5 doses crescentes de amilase, totalizando 10 tratamentos, com nove repetições de 7 aves cada (Tabela 2).

A amilase (RONOZYME Histarch (CT), NOVOZYMES) utilizada é uma enzima termotolerante contendo α -Amylase (IUB No. 3.2.1.1) produzida pela fermentação do microrganismo modificado geneticamente (*Bacillus licheniformis*). A atividade mínima da enzima é de 600 unidades kilo-Novo (KNU) por grama. Uma KNU é a quantidade de enzima que libera em uma reação em duas etapas, 6 μ mol p-nitrofenol por minuto a partir de 1,86 mM de etiledeno-G7-p-nitrofenil-maltoheptaosídeo em pH 7,0 e 37°C. Essa enzima foi adicionada de maneira *on top* na dieta, ou seja, sem considerar sua contribuição nutricional na formulação da dieta.

Ensaio de digestibilidade

Durante o período experimental houve 5 dias de adaptação à dieta e posteriormente, durante 4 dias (21 aos 24 dias), foi realizada a amostragem de excretas pelo método de coleta parcial. As coletas foram realizadas duas vezes ao dia, com auxílio de espátulas plásticas. As excretas foram colocadas em sacos plásticos adequadamente identificados e imediatamente após as coletas, foram armazenadas em freezer - 18°C, para congelamento.

Para digestibilidade do amido e da matéria seca da porção do jejuno e do íleo, aos 25 dias de idade, as aves foram abatidas por deslocamento cervical, evisceradas e posteriormente separou-se o intestino das mesmas. O conteúdo do jejuno foi coletado entre 4 cm após o término do pâncreas e 4 cm acima do divertículo de Meckel. A fração ileal foi definida como 4 cm abaixo do divertículo de Meckel e 4 cm acima da junção íleo-ceco-cólica. Todo o conteúdo do jejuno e do íleo foi retirado manualmente por compressão, com auxílio de tesouras e pinças e acondicionado em recipientes plásticos

devidamente identificados. Em seguida, as amostras foram congeladas instantaneamente em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -18°C.

Análises químicas

As excretas foram descongeladas em temperatura ambiente, homogeneizadas, retiradas subamostras e secas em estufa a 55°C até atingirem peso constante. O conteúdo do jejuno e do íleo foram liofilizados em frascos previamente congelados à -20°C, sendo então colocados nas bandejas do liofilizador (Liofilizador Modulyo D, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) até a pressão de vácuo de 5×10^{-2} mbar. As amostras foram moídas em peneira com furos de 1 mm de diâmetro. Posteriormente, as excretas e as dietas experimentais foram submetidas a análise de energia bruta (EB) em bomba calorimétrica (model 1261, ParrInstrument Co., Moline, IL). O conteúdo de CIA das dietas, das excretas, do conteúdo do jejuno e do íleo foram analisados segundo metodologia descrita por Scott e Boldaji (1997). As dietas, o conteúdo do jejuno e do íleo foram analisados quanto ao amido disponível (AD), amido resistente (AR) e amido total (AT) (AOAC, 2000). Para ajuste da digestibilidade para MS, as amostras foram secas em estufa à 105°C (AOAC, 1995).

A metabolizabilidade, digestibilidade e retenção total do trato das frações da dieta foram calculadas utilizando o fator de indigestibilidade (FI): $FI = CIA \text{ dieta} / CIA \text{ excreta}$. A retenção total do trato da MS (RTT da MS) foi calculada segundo a equação: $RTT \text{ da MS} = 100 - FI$. A EMA foi calculada por: $EMA = EB \text{ dieta} - (EB \text{ excretas} \times FI)$. O coeficiente de digestibilidade aparente do AD, AR, AT e da PB mensurados no conteúdo do jejuno e do íleo (CDj e CDi, respectivamente) foram calculados por: $CD_{jiAD} = (AD \text{ dieta} - (AD \text{ conteúdo intestinal} \times FI)) / AD \text{ da dieta} \times 100$. Posteriormente, calculou-se utilizando a equação proposta por Matterson et al. (1965) a digestibilidade do milho: CD_{ij}

Ingrediente = CD Dieta Referencia +(((CD Dieta com 40% de milho - CD Dieta Referencia)/(% de inclusão*MS do milho)).

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso em esquema fatorial 5 a 2, sendo cinco doses de amilase e duas dietas (a base de milho e farelo de soja e no ingrediente milho). Os dados foram previamente analisados quanto à sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância (ANOVA), a 5% de significância. Para desdobramento da interação, os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5%. Quando significativos para as variáveis quantitativas (níveis crescentes de inclusão de amilase) foi feita regressão linear. Para determinar o nível máximo da resposta à amilase, os dados foram submetidos à regressão descontínua *Linear Response Plateau* (LRP).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi encontrado interação entre o tipo de dieta e os níveis de amilase no CDj da MS e na EMA (Tabela 4; $P < 0,05$). O milho utilizado nesse experimento continha 78% de amido, conforme demonstrado na Tabela 3. O grânulo de amido apresenta digestibilidade conforme sua relação amilose: amilopectina, sendo maior nos grãos de legumes (0,33) do que nos de cereais (0,25) (Eliasson e Gudmundsson, 1996). E em geral, quanto mais alta essa relação, maior a dificuldade de acesso pelas enzimas digestivas e consequentemente uma pior digestão desse amido em função da alta concentração de amilose (Sajilata et al., 2006). Em função dos altos teores de amido e da menor relação de amilose e consequentemente maior facilidade de acesso ao substrato pelas enzimas, a

digestibilidade foi mais evidente no milho que é um cereal do que na dieta ($P < 0,05$). Com maior nível de amilase foi encontrado melhora de cerca de 50% na CDj da MS no milho, enquanto que, nas dietas a base de milho e farelo de soja foi de apenas 10%, resultando em aumento de EMA de 9% e de 1,4%, respectivamente.

Outro fator importante que pode ter contribuído para essa interação, é que a proteína se concentra principalmente no endosperma vítreo, no qual o amido está circundado por uma matriz proteica (Watson, 1987), dessa maneira com uma maior digestibilidade do amido a proteína estaria disponível para enzimas endógenas. Além disso, no grânulo de amido de cereais são encontrados de 1 a 14 g de lipídeo/kg (Buleon et al., 1998; Abdel-Aal et al., 2002) e até 3 g de proteína/kg (Cornell et al., 1994; Hoover and Vasanthan, 1994; Vasanthan and Bhatti, 1996; Abdel-Aal et al., 2002), ou seja, até 1,7 % de outros compostos nutritivos podem estar encapsulados no grânulo de amido. Com a adição da amilase, esses compostos seriam liberados, e isso justificaria a melhora no CDj da MS e na EMA sem melhorar a digestibilidade dos demais parâmetros analisados.

A inclusão de amilase também aumentou a RTT da MS ($P < 0,05$). Esses dados corroboram com Zanella et al. (1999), que encontraram melhora de 91,2 para 93,0% na CDi e de 98,2 para 98,5% na RTT do amido quando frangos foram alimentados com dietas contendo complexo enzimático com amilase, protease e xilanase em dietas à base de milho e farelo de soja. Perus alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja com suplementação de amilase apresentaram aumento a altura das vilos intestinais, foi o que encontraram Ritz et al. (1995). Com esse aumento, a área de absorção também é aumentada e por consequência, pode melhorar a digestibilidade de outras frações da dieta além do amido (Caspary, 1992).

Normalmente o milho pode ser submetido a elevadas temperaturas no processo de secagem artificial, para ser utilizado nas dietas. Em estudo avaliando o aumento da

temperatura de secagem foi observado efeito quadrático na EMA, com melhores resultados entre 49 e 50°C (Carvalho et al. 2004). Quando o milho foi submetido a temperaturas acima de 60°C, o valor nutritivo reduziu no milho para ratos (Hathaway et al., 1952). Outros autores afirmam que a temperatura de secagem do milho para minimizar as perdas nutricionais está entre 62 e 75°C (Penfield e Campbell, 1990). Como normalmente no Brasil o milho é seco em temperaturas bem acima disso, de 80 a 120°C, podem-se formar reações químicas como as reações que tornam alguns compostos indigestíveis como a formação de amido retrogradado que reduz a digestão do amido. Essas reações poderiam explicar os resultados encontrados no presente estudo para amido resistente já que alguns autores afirmam que a maioria das análises de amido na ração, o AR hidrolisado pela enzima pode ser considerado AR3, que é o retrogradado, pois o AR1 e o AR2 são solubilizados pela moagem e gelatinização (Asp, 1996; Wolf et al., 1999). O amido retrogradado é formado logo ao resfriar-se, podendo sofrer o processo reverso da gelatinização denominado retrogradação (Atwell et al., 1988). Esse processo consiste na reorganização das cadeias de amilose sendo ligadas por pontes de hidrogênio formando duplas helicoidais (Bello-Pérez et al. 2006) e retirando a água de dentro do grânulo e podendo aumentar a viscosidade do amido (Lajolo e Menezes, 2006), resultando em uma maior dificuldade na digestão.

Não foram observadas diferenças significativas entre a CDi do AD entre o milho e a dieta ($P>0,05$). Isso porque o amido pode ser dividido em duas frações o amido glicêmico ou disponível e o amido resistente (AR) (Walter et al., 2005). O AD é aquele considerado de fácil digestão pelo animal e AR, seria o amido que resiste a digestão enzimática no intestino delgado sendo fermentado pelas bactérias das frações finais do intestino (Yue e Waring, 1998). Dessa maneira, esse resultado pode ser consequência de que o AD é a fração disponível para o animal e sua digestibilidade foi naturalmente

elevada tanto para dieta quanto no milho. Dessa maneira, mesmo com a suplementação exógena de enzimas a digestibilidade não aumentou.

Normalmente dietas a base de milho e farelo de soja são consideradas de elevada digestibilidade, possuindo menores teores de polissacarídeos não amiláceos quando comparadas a dietas com cereais de inverno como trigo, centeio e cevada (Gracia et al., 2003; Meng and Slominski, 2005). Entretanto, com exceção da digestibilidade ileal do AD, em função de fatores supracitados como maior facilidade de acesso ao substrato por enzimas digestivas e alto teor de amido, a digestibilidade do milho para os demais parâmetros, para a retenção total do trato da MS e a EMA são superiores ($P < 0,05$).

Na literatura são encontrados resultados de melhora de 2,0, a 2,9% na EMA de dietas à base de milho e farelo de soja suplementadas com complexo enzimático contendo amilase (Zanella et al., 1999; Douglas et al., 2000; Rutherford et al., 2007; Stefanello et al., 2015). Entretanto utilizando amilase monocomponente Gracia et al. (2003), relataram um aumento de cerca de 1,7 a 3% na EMA em aves com idade de 21 e 42 dias, respectivamente. Stefanello et al. (2015) utilizando somente amilase também encontraram um benefício de cerca de 2% na EMA. Esses dados estão de acordo com os dados encontrados no presente estudo em que foi observado cerca de 1,5% de aumento linear na EMA na dieta completa a base de milho e farelo de soja. Além da EMA, no presente estudo foram observados aumentos lineares nos CDj da MS e na CDi do AR ($P < 0,05$) nas dietas com doses crescentes de amilase ($P < 0,05$; Tabela 5). Essa melhora de digestibilidade encontrada provavelmente resultaria em um melhor desempenho das aves. E isso foi relatado por Jiang et al. (2008), que observaram uma melhora linear no ganho de peso de frangos alimentados com dietas suplementadas com níveis crescentes de amilase.

Os parâmetros avaliados respondem até certo nível de aumento de inclusão de amilase, após isso há uma estagnação chamada de platô. Esse modelo de regressão linear seguida por um platô foi descrito e nomeado como *Linear Response Plateau* (LRP) (Robbins, 1986). Com base nisso, verificou-se que a amilase utilizada isoladamente na dieta em dose de 80 KNU/kg pode aumentar em 60 kcal a EMA da dieta de milho e farelo de soja. Os resultados de melhora na EMA da dieta completa corroboram com os trabalhos mencionados anteriormente em que foram encontradas aumento da EMA de 70 kcal/kg de MS (Stefanello et al. 2015) a 95 kcal/kg na MS (Gracia et al., 2003).

Além da EMA, foram observados efeitos de LRP com platô em 71,14% na RTT da MS com 80 KNU/ kg de amilase e de 83,90% na CDi do AR com 120 KNU/kg de amilase ($P < 0.05$). Estes dados estão de acordo com os encontrados por Zhang et al. (2012), que, avaliando a resposta da digestibilidade de nutrientes e eficiência energética do milho à níveis enzimáticos, também observaram atuação enzimática limitada utilizando regressões quadráticas.

A digestibilidade do amido de milho é elevada quando comparada aos demais cereais utilizados na nutrição animal, segundo Carré (2004), situando-se acima de 96%. Utilizando frangos com 21 dias, Svihus et al. (2004) observaram uma digestibilidade ileal do amido de cerca de 97%. Skiba et al. (2003) em experimento com frangos de 20 a 24 dias de idade, encontraram de 91 a 96 % de digestibilidade do amido. Quando comparado com outros cereais, Svihus (2001) encontrou digestibilidade do amido de trigo, cevada e aveia de 79%, 96% e 99%, respectivamente. Apesar de a maioria da literatura afirmar que a digestibilidade desse amido do milho é elevada, alguns pesquisadores afirmam que essa digestibilidade raramente ultrapassaria 85% (Noy e Sklan,1995). Essa diferença encontrada na literatura, pode ser justificada pela idade das aves. Zelenka e Ceresnakova (2005), observaram aumento linear de 4,4% do primeiro para 22 dias de idade chegando

até cerca de 99%. Além disso, há diferenças entre metodologias tanto da análise de amido quanto na digestibilidade e também ainda diferenças intrínsecas do milho e de seu amido.

Comparando as diferentes frações do intestino, Riesenfeld et al. (1980) observaram que a digestibilidade do amido no duodeno foi de 65%, 85% no jejuno e cerca de 97% até o final do íleo. Esses dados estão similares aos encontrados no presente estudo em que no jejuno foi observado digestibilidade do amido de 85 a 88% e de 93 a 96% no íleo.

No milho foram encontrados aumentos lineares na CDj, CDi e RTT da MS e na EMA com a inclusão de enzima ($P<0.05$). Isoladamente no milho, a resposta na energia é mais expressiva, as doses variam 109 KNU/Kg de amilase, gerando 327 Kcal/kg de EMA aos 25 dias de idade de frangos de corte ($P<0,05$). Na RTT da MS a resposta máxima foi de 91,62 % com 101 KNU/kg de amilase ($P<0,05$). Também foi encontrado efeito LRP na CDj da MS com resposta máxima em 67% com 47 KNU/kg de amilase ($P<0,05$).

A digestibilidade do AR do milho apresenta melhora linear de cerca de 9% marginalmente significativa ($P<0,10$), afetada principalmente pelas maiores variações de resultados encontradas no milho em detrimento da ração completa. Essa grande variação encontradas no milho pode ser em função da metodologia utilizada. Nela, substitui-se parte da dieta referência pelo alimento testado (no caso milho) e por meio de equações calcula-se a digestibilidade do alimento comparando o valor da digestibilidade da dieta referência e da dieta teste (com inclusão do alimento testado). Essa metodologia atribui toda variação de resultados entre dieta referência e dieta teste ao alimento testado. Dessa maneira, pequenas variações analíticas podem significar grandes variações na digestibilidade do alimento testado e isso pode ser uma limitação dessa metodologia.

CONCLUSÃO

A utilização de amilase exógena melhora a digestibilidade do amido resistente e da MS e por consequência aumenta a EMA na dieta e no milho para frangos com 25 dias de idade. Em função da maior quantidade de substrato no milho o efeito é mais evidente, resultando em até 327 Kcal/kg de MS na dose de 109 KNU/kg de amilase, enquanto que na dieta foi encontrado ganho de 60 kcal/kg de MS utilizando 80 KNU/kg de amilase.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Aal, E.-S.M., Hucl, P., Chibbar, R.N., Han, H.L., Demeke, T., 2002. Physicochemical and structural characteristics of flours and starches from waxy and nonwaxy wheats. *Cereal Chem.* 79, 458– 464.
- Annison, E.F., K. J. Hill, R. C. Kenworthy. 1968. Volatile fatty acids in the digestive tract of the fowl. *British Journal of Nutrition* 22: 207-216.
- Asp, N.G.1996. Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology. *Food Chem*, 57, 1:9-14.
- Association of the Official Analytical Chemists International. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. AOAC Int., Arlington, VA.
- Atwell, W. A.; Hood, I. F.; Lineback, D. R.; Varriano-Martson, E.; Zobel, H. F. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, Minneapolis, v. 33, n. 3, p. 306-311, Mar. 1988.
- Bach Knudsen, K. E. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 67:319–338.
- Bello-Pérez, L.A., M.G.M. Montealvo, E.A. Acevedo (2006) Almidón: defenición, estrutura y propiedades. In: *Carbohidratos em alimentos regionais iberoamericanos*. São Paulo: Edusc, 2006. Cap. 1, p.17-46.
- Botham, R.L. et al. 1995. A physicochemical characterization of chick pea starch resistant to digestion in the human small intestine. *Carbohydr Polym.* 26, 83-90.
- Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S., 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *Int. J. Biol. Macromol.* 23, 85–112.

- Carvalho, D. C. O. et al. 2004. Composição química e energética de amostras de milho submetidas a diferentes temperaturas de secagem e períodos de armazenamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG. 33, 358-364.
- Caspary W. F. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 299–308.
- Cornell, H.J., Hoveling, A.W., Chryss, A., Rogers, M., 1994. Particle size distribution in wheat starch and its importance in processing. *Starch* 46, 203–207.
- Dierick, N. A., Vervaeke, I. J., Demeyer, D. I. & Decuypere, J. A. 1989, Approach to the energetic importance of fibre digestion in pigs. I. Importance of fermentation in the overall energy supply. *Anim. Feed Sci. Technol.* 23, 141–167
- Douglas, M.W., C.M. Parsons, M.R.Bedford. 2000. Effect of various soybean meal sources and avizyme on chick growth performance and ileal digestible energy. *J. Appl. Poult. Res.* 9,74–80.
- Eliasson, A. C. & Gudmundsson, M. 1996. Starch: physicochemical and functional aspects. In: *Carbohydrates in Food* (Eliasson, A. C., ed.), pp. 431–503. Marcel Dekker, New York, NY.
- Englyst, H. N., H. S. Wiggins, and J. H. Cummings. 1982. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst.* 107, 307–318.
- Englyst, H.N. et al. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur J Clin Nutr.* 46, 33-50.
- Gilbert, G.A. and S.P. Spragg. 1964. Iodine sorption: “Blue Value”. In: Whistler, R.L., *Methods in Carbohydrate Chemistry*. Academic Press Inc., New York, 168–169.
- Gracia, M.I. et al. 2003. α -amilase supplementation of broiler diets based on corn. *World’s Poultry Science Journal.* 82, 436-442.
- Hathaway, I.L.; Young, F.D.; Kiesselbach, T.A. 1952. The effect of drying temperature upon the nutritive value and commercial grade of corn. *Journal of Animal Science.* 11, 430.
- Hoover, R., Vasanthan, T., 1994. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohydr. Res.* 252, 33–53.
- Isaksen, M. F. et al. Starch- and Protein-degrading Enzymes: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. In: BEDFORD,

- M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. 2011. Cap.4, p.85-95.
- Jiang, Z., Y. Zhou, F. Lu, Z. Han, and T. Wang. 2008. Effects of different levels of supplementary alpha-amylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 21, 97–102.
- Mahagna, M., I. Nir, M. Larbier, and Z. Nitsan. 1995. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 201–212.
- Matterson, L. D., L. M. Potter, M. W. Stutz. 1965. The metabolizable energy of feed ingredients for chickens. Storrs. Connecticut. The University of Connecticut. Agricultural Experiment Station. 11p.
- Meng, X., B. A. Slominski. 2005. Nutritive values of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. *Poult Sci.* 84, 1242–1251
- Moran, E. T. 1982. Starch digestion in fowl. *Poult. Sci.* 61, 1257–1267.
- Muir, J.G., K. O'dea. 1992. Measurement of resistant starch: factors affecting the amount of starch escaping digestion in vitro. *Am J Clin Nutr.* 56, 123-127.
- Penfield, M.P.; Campbell, A.M.1990. *Experimental food science*. 3.ed. The University of Tennessee, Knoxville University of Nebraska. 386p.
- Prosky, P., N. G. Asp, T. F. Schweizer, J. W. de Vries, I. Furda. 1988. Determination of insoluble, soluble, and total dietary fiber in foods, food products: interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem*, 71,1017-1023.
- Noy, Y., Sklan, D. 1995. Digestion and absorption in the young chick . *Poult. Sci.* 74:366-373.
- Riesenfeld, G. et al. 1980. Glucose absorption and starch digestion in the intestine of the Chicken. *Journal of Nutrition* 110, 117-121.
- Ritz, C. W., R. M. Halet, B. B. Self and D. M. Denbow. 1995. Endogenous amylase levels and response to supplementation feed enzymes in male turkeys from hatch to eight weeks of age. *Poult. Sci.* 74, 1317-1322.
- Robbins, K.L. A method, SAS program, and example for fitting the broken-line to growth data. Tennessee: University of Tennessee, Agricultural Experiment Station, 1986. 8p. (Research Report 86/09).

- Rooney, L. W., R. L. Pflugfelder. 1986. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal of Animal Science*. 63, 1607–1623.
- Rutherford, S.M., T.K. Chung, and P.J. Moughan. 2007. The effect of a commercial enzyme preparation on apparent metabolizable energy, the true ileal amino acid digestibility, and endogenous ileal lysine losses in broiler chickens. *Poult. Sci.* 86, 665–672.
- Sajilata, M. G., Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. 2006. Resistant starch: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5(1), 1-17.
- Sakamoto, M.I. Performance, development and enzymatic activity of the intestinal mucosa of broiler chickens fed with diets supplemented with glutamine and nucleotides [thesis]. Pirassununga (SP): Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo; 2009.
- Scott, T.A., F. Boldaji. 1997. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash (Celite™)] for determining apparent metabolizable energy of wheat- or barley-based broiler diets with or without enzymes. *Poultry Science*. 76, 594-598.
- Skiba F. et al. 2003. Relationships between crude protein content, starch content, specific weight, hardness, sprouting and the nutritive value of wheat for broiler chickens. In: *Proceedings of the 14th European Symposium on Poultry Nutrition*. World's Poultry Science Association, Lillehammer, Norway, 351–352.
- Sklan, D. et al. 2003. Ontogeny of brush border carbohydrate digestion in the chick. *Br. J. Nutr.* 89, 747–753.
- Stefanello, C. et al. 2015. Starch digestibility, energy utilization and growth performance of broilers fed cornsoybean basal diets supplemented with enzymes. *Poult. Sci.* 94, 2472–2479.
- Svihus, B. 2001. Research note: a consistent low starch digestibility observed in pelleted broiler chicken diets containing high levels of different wheat varieties. *Anim. Feed Sci. Tech.* 92, 45–50.
- Svihus, B., K. H. Klovstad., O. Zimonja. 2004. The effect of using un-ground corn instead of ground corn before pelleting on performance and feed utilisation in broilers. In: *World's Poultry Congress*. World's Poultry Science Association, Istanbul, Turkey. CD WPC 2004, fullpaper/1053.
- Tester, R. F., J. Karkalas, and X. Qi. 2004. Starch–Composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 39, 151–165.

- Uni, Z., Y. Noy, D. Sklan. 1995. Post hatch changes in morphology and function of small intestines in heavy and light strain chicks. *Poultry Science*. 74, 1622-1629.
- Vasanthan, T., Bhatta, R.S., 1996. Physicochemical properties of small- and large-granule starches of waxy, regular and high amylose barleys. *Cereal Chem*. 73, 199–207.
- Walter M., et al. 2005. Amido resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologia de quantificação. *Ciência Rural*, Santa Maria, 35:4 p.974-980.
- Watson, S.A. 1987. Structure and composition. In: *Com: chemistry and technology*. S.A. Watson and P.T. Ramstad, eds. Am. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, MN. pp. 53-82.
- Weurding, R.E et al. 2001. Starch digestion rate in the small intestine of broiler chickens differ among feedstuffs. *J. of Nutri*. 131, 2329-2335.
- Weurding, R.E. et al. 2003. The effect of site of starch digestion on performance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 110, 175-184.
- Wolf, B. W. et al. 1999. Effects of chemical modification on in vitro rate and extent of food starch digestion: an attempt to discover a slowly digested starch. *J Agr Food Chem*. 47, 4178-4183.
- Yue, P.; Waring, S. 1998. Resistant starch in food applications. *Cereal Food World*, 43:9, p.690-695.
- Zanella, I., N. K. Sakomura, F. G. Silversides, A. Figueiro, and M. Pack. 1999. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. *Poult. Sci*. 78, 561–568.
- Zelenka, J., Z. Ceresnakova. 2005. Effect of age on digestibility of starch in chickens with different growth rate. *Czech Journal of Animal Science* 50(9): 411-415.
- Zhang, G. G., Z. B. Yang, Q. Q. Zhang, W. R. Yang, and S. Z. Jiang. 2012. A multienzyme preparation enhances the utilization of nutrients and energy from pure corn and wheat diets in broilers. *J. Appl. Poult. Res*. 21, 216–225.

Tabela 1. Composição das dietas utilizadas no experimento.

Ingredientes	Dietas Iniciais (até 14 dias de idade)	Dietas Experimentais (depois de 15 dias de idade)
Milho (%)	52.74	56.35
Farelo de soja (%)	38.17	34.35
Óleo de soja (%)	5.05	4.52
Fosfato ¹ (%)	1.81	1.84
Calcário (%)	0.91	0.91
Sal (%)	0.48	0.48
L-Lisina (%)	0.275	0.150
DL-Metionina (%)	0.197	0.162
L-Treonina (%)	0.124	0.040
Cloreto de Colina (%)	0.050	0.050
Celite® ²	-	1.000
Premix Mineral ³ (%)	0.055	0.050
Premix Vitaminico ⁴ (%)	0.125	0.10
Composição Nutricional Calculada		
Energia Metabolizável (kcal/kg)	3099	3100
Proteína Bruta (%)	22.00	21.00
Calcio (%)	0.900	0.900
Fósforo disponível (%)	0.450	0.450
Sódio (%)	0.220	0.220
Lisina digestível (%)	1.300	1.150
Metionina digestível(%)	0.507	0.462
Met + Cis digestível (%)	0.811	0.759
Triptofano digestível (%)	0.243	0.232
Treonina digestível (%)	0.858	0.747
Argina digestível (%)	1.385	1.323
Colina (mg)	1.60	1.51

¹Composição: 0.013% de Cl; 24.00% de Ca; 18.5% de aP; 0.1 de K; 0.06 de Na.

²Marcador indigestível (Celite, Celite Corp., Lompoc, CA).

³Concentração por kg: iodo, 2mg; selênio, 200mg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg.

⁴Suplementação por kg: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg.

Tabela 2. Atividade enzimática dos tratamentos e composição básica das dietas.

Tratamentos	Amilase, KNU/Kg		Dietas
	Declarado	Analisado	
Trat 1	0	< LOD	Milho + Farelo de Soja
Trat 2	40	32	Milho + Farelo de Soja
Trat 3	80	53	Milho + Farelo de Soja
Trat 4	120	70	Milho + Farelo de Soja
Trat 5	160	141	Milho + Farelo de Soja
Trat 6	0	< LOD	Milho + Farelo de Soja + 40% Milho
Trat 7	40	44	Milho + Farelo de Soja + 40% Milho
Trat 8	80	65	Milho + Farelo de Soja + 40% Milho
Trat 9	120	127	Milho + Farelo de Soja + 40% Milho
Trat 10	160	151	Milho + Farelo de Soja + 40% Milho

Tabela 3. Composição química do milho utilizado no experimento.

Composição química	Matéria seca (%)
Matéria Seca	87.05
Proteína Bruta	7.45
Fibra total	8.65
Fibra insolúvel	7.55
Fibra solúvel	1.10
Amido total ²	78.00
Amilose na amostra	18.74
Amilose no amido	24.00
Cinzas	1.00
Cálcio	0.03
Fósforo	0.22

¹ Método proposto por Prosky et al., 1988.

² Conteúdo de amilose foi obtido pelo método Blue Value (Gilbert and Spragg, 1964) utilizando enzimas para hidrolizar: α -amilase Termamyl 120Ls, protease Flavourzyme 500Ls e amiloglucosidase AMG 300Ls, todas produzidas pela Novozymes Latin American Limited.

Tabela 4. Coeficientes de digestibilidade aparente do conteúdo jejunal (CDj) e do conteúdo ileal (CDi) da matéria seca (MS), amido disponível (AD), amido resistente (AR), amido total (AT) e retenção total do trato (RTT) da MS e energia metabolizável aparente (EMA; Kcal/kg de MS) de dietas e do milho com suplementação de níveis crescentes de amilase em frangos de 25 dias de idade.

Dietas	Amilase, KNU/kg ¹	CDj					CDi					RTT		EMA(kcal/kg de MS)
		MS	AD	AR	AT	MS	AD	AR	AT	MS	MS	AT	MS	
Á base de milho e farelo de soja	0	49,14 ^{e*}	78,62	60,43	77,38	74,00	96,12	78,01	95,11	74,22	3711 ^b			
	40	48,13 ^c	78,98	65,15	77,49	73,81	95,42	80,19	94,37	75,11	3736 ^b			
	80	54,53 ^{bc}	77,48	64,94	76,34	74,60	96,62	80,28	95,71	75,88	3775 ^b			
	120	53,34 ^{bc}	77,60	65,15	74,01	74,48	96,71	85,94	96,08	78,84	3779 ^b			
	160	54,43 ^{bc}	80,45	64,75	79,93	74,29	95,06	83,59	94,33	76,14	3762 ^b			
Milho	0	48,33 ^c	82,67	83,55	85,18	82,25	95,60	86,87	96,39	87,06	3696 ^b			
	40	64,78 ^{ab}	85,29	80,02	88,31	81,20	95,46	88,44	95,08	88,29	3770 ^b			
	80	65,40 ^{ab}	86,97	88,56	87,08	83,40	96,29	91,50	96,47	90,83	3946 ^a			
	120	64,18 ^{ab}	87,67	90,82	88,40	85,27	97,52	94,36	96,38	91,84	4019 ^a			
	160	73,96 ^a	86,13	90,04	86,58	85,45	94,92	95,44	93,11	91,41	4028 ^a			
Á base de milho e farelo de soja		51,91	78,63	64,08	77,03	74,24	95,99	81,60	95,12	76,04	3753			
Milho		63,33	85,75	86,60	87,11	83,51	95,96	91,32	95,49	89,89	3892			
	0	48,74	80,65	71,99	81,28	78,13	95,86	82,44	95,75	80,64	3704			
	40	56,46	82,14	72,59	82,90	77,51	95,44	84,32	94,73	81,70	3753			
	80	59,97	82,23	76,75	81,71	79,00	96,46	85,89	96,09	83,36	3861			
	120	58,76	82,64	77,99	81,21	79,88	97,12	90,15	96,23	85,34	3899			
	160	64,20	83,29	77,40	83,26	79,87	94,99	89,52	93,72	83,78	3895			
CV(%)		14,05	10,04	21,20	9,14	4,49	3,06	5,71	2,22	2,58	2,68			
Probabilidade	Amilase	<0,0001	0,7962	0,7672	0,9668	0,1756	0,2947	<0,0001	0,2384	<0,0001	<0,0001			
	Dietas	<0,0001	0,0006	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1069	<0,0001	0,0085	<0,0001	<0,0001			
	Amilase*Dietas	0,0094	0,7119	0,8228	0,3923	0,5695	0,8548	0,5199	0,0502	0,4314	0,0002			

¹KNU/kg

*Médias seguidas por letras diferem entre si no mesmo parâmetro.

Tabela 5. Regressões dos coeficientes de digestibilidade aparente do conteúdo jejunal (CDj) e do conteúdo ileal (CDi) da matéria seca (MS), amido disponível (AD), amido resistente (AR), amido total (AT) e retenção total do trato (RTT) da MS e energia metabolizável aparente (EMA; Kcal/kg) de dietas e do milho com suplementação de níveis crescentes de amilase em frangos de 25 dias de idade.

Regressão	CDj				CDi				RTT		EMA
	MS	AD	AR	AT	MS	AD	AR	AT	MS		
Á base de milho e farelo de soja											
Linear	0,0054 ¹	0,6936	0,5098	0,9450	0,5005	0,5740	0,0003 ⁶	0,9150	0,0002 ⁸	0,0167 ¹³	
Quadratica	0,5836	0,5351	0,3377	0,1701	0,8583	0,0820	0,4760	0,0960	<0,0001 ⁹	0,0951	
RLP	0,0152 ²	0,9170	0,2151	0,4450	0,7547	0,7920	0,0010 ⁷	0,8750	0,0001 ¹⁰	0,0117 ¹⁴	
Milho											
Linear	<0,0001 ³	0,5548	0,2944	0,9014	0,0407 ⁵	0,8533	0,0568	0,0799	0,0002 ¹¹	<0,0001 ¹⁵	
Quadratica	0,1736	0,2601	0,7486	0,3142	0,6930	0,3440	0,9273	0,1285	0,1472	0,1815	
RLP	0,0001 ⁴	0,6207	0,2718	0,5361	0,0843	0,8103	0,0882	0,2328	0,0001 ¹²	<0,0001 ¹⁶	

¹ y = 0,0387x + 48,782; R² = 0,1869

² y = 53,9232 - 0,0674(89,35 - x)lri; R² = 0,69, Break point 53,92% (máximo), r = 89 KNU/kg (nível ótimo)

³ y = 0,1194x + 53,793; R² = 0,2992

⁴ y = 67,8475 - 0,4112(47 - x)lri; R² = 0,71, Break point 67,84% (máximo), r = 47 KNU/kg (nível ótimo)

⁵ y = 0,0251x + 81,531; R² = 0,1037

⁶ y = 0,0415x + 78,178; R² = 0,29

⁷ y = 83,9029 - 0,0487(120 - x)lri; R² = 0,82, Break point 83,90% (máximo), r = 120 KNU/kg (nível ótimo)

⁸ y = 0,0082x + 74,47; R² = 0,295

⁹ y = -4E-05x² + 0,0221x + 73,772; R² = 0,3699

¹⁰ y = 77,1478 - 0,0379(80 - x)lri; R² = 0,82, Break point 71,14% (máximo), r = 80 KNU/kg (nível ótimo)

¹¹ y = 0,0269x + 86,13; R² = 0,3815

¹² y = 91,6233 - 0,0457(101 - x)lri; R² = 0,77, Break point 91,62% (máximo), r = 101 KNU/kg (nível ótimo)

¹³ y = 0,3781x + 3722,81; R² = 0,135

¹⁴ y = 3771,5 - 0,784(80 - x)lri; R² = 0,61, Break point = 3771,5 kcal/kg (máximo); r = 80 KNU/kg (nível ótimo)

¹⁵ y = 2,2961x + 3710,02; R² = 0,48

¹⁶ y = 4023 - 3,1225(109,6 - x)lri; R² = 0,79, Break point = 4023 kcal/kg (máximo); r = 109,6 KNU/kg (nível ótimo)

CAPÍTULO 3. Equivalência energética da amilase exógena em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte

EQUIVALÊNCIA ENERGÉTICA DA AMILASE

Equivalência energética da amilase exógena em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte.

V. G. Schramm^{*1}, J. F. Durau^{*}, R.O.F. Santos^{*}, A. Cowieson[§], A. P. Félix^{*} and A. Maiorka^{*}

^{*}Department of Animal Science, Federal University of Paraná, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, UFPR. Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, Brazil; [†]DSM Nutritional Products, Av. Engº Billings, 1729, São Paulo, SP, Brazil; [§]DSM Nutritional Products, Wurmisweg 576, 4303 Kaiseraugst, Switzerland

¹Corresponding author: schrammvgs@gmail.com

Vinícius Gonsales Schramm – Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, UFPR. Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, Brazil. CEP 82050-035 .Tel +0055 41 97163019

Scientific section: Metabolism and Nutrition

RESUMO O amido representa mais de metade da energia das dietas de frangos e não é totalmente aproveitado. Neste contexto, a amilase seria alternativa para aumentar a digestibilidade, entretanto a equivalência energética é desconhecida. O objetivo do trabalho foi estimar a energia liberada pela amilase em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte. No exp. 1 utilizou-se seis tratamentos sendo: cinco níveis energéticos sendo: 3150, 3100, 3050, 3000 e 2950 kcal/kg de 1 a 21 dias de idade e 3270, 3220, 3170, 3120 e 3070 kcal/kg de 22 a 42 dias de idade de frangos de corte. O exp. 2, foi de 35 a 47 dias de idade cinco tratamentos com quatro níveis de energia (3280, 3200, 3120 e 3040 kcal/kg). Em ambos experimentos, em um tratamento igual dieta padrão 0 foi adicionado amilase (80 KNU/ kg). Avaliou-se: consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA). No experimento 2 também foi avaliado digestibilidade ileal (CDi) da MS, da PB, do amido disponível (AD), do amido resistente (AR), do amido total (AT), energia digestível ileal (EDi), rendimento de carcaça, rendimento de peito (RP), rendimento de coxa e sobre-coxa (RCS), e gordura abdominal (GA). Os dados foram submetidos à análise de regressão comparando os níveis de energia ($P < 0,05$) e posteriormente, foi calculada a equivalência energética da enzima. No exp.1, as equivalências foram -5 Kcal para CA de 1 a 21 dias, 140 Kcal para CR e 125 Kcal para CA de 22 a 42 dias e de 85 Kcal para CA de 1 a 42 dias de idade. No exp. 2, para GP e CA de 35 a 42, 43 a 47 e de 35 a 47 dias de idade, as equivalências foram 46; 63; 82; 22; 40 e 78 kcal, respectivamente. Para CDi da MS, AD e AT, na EDi e na GA a equivalência foi de 39; 50; 61; 41 e 7 kcal, respectivamente. Para CDiAR e RP foi observado efeito quadrático com equivalência de 87 e 34 kcal, respectivamente. As demais variáveis não responderam aos níveis de energia. Dessa maneira, pode-se concluir que a amilase libera cerca de 59 kcal de energia utilizando os diferentes parâmetros avaliados.

Palavras-chave: amido, enzima, energia, digestibilidade

INTRODUÇÃO

O milho é o principal constituinte das dietas de frangos e possui cerca de 69% de amido (Bach Knudsen, 1997), tornando o amido a principal fonte de energia em dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte (Weurding et al., 2001; Svihus, 2014). Apesar desse composto apresentar elevada digestibilidade, a digestão não é completa (Meng e Slomiski, 2005), sendo que 2 a 6% do amido dos grãos de cereais podem ser indigestíveis (Weurding, 2001). Isso pode ocorrer em função de diversos fatores, sendo eles intrínsecos ao milho, da estrutura do amido, ou até por limitações no aparato enzimático da ave. Adicionando amilase exógena pode-se aumentar a digestibilidade do amido e melhorar por consequência a EMA da dieta (Gracia et al., 2003; Kaczmarek et al., 2014; Stefanello et al., 2015). Em função desse maior aproveitamento o desempenho de frangos de corte também pode melhorar (Gracia et al., 2003; Onderci et al., 2006; Jiang et al., 2008; Kaczmarek et al., 2014; Stefanello et al., 2015).

Normalmente a eficiência da enzima é mensurada pela melhora no desempenho ou pela redução de custos proporcionada (Zou et al., 2006). Entretanto, nem sempre é fácil separar os efeitos. Dessa maneira, avaliar o efeito das enzimas não é simples, visto que a enzima também pode aumentar e ou alterar a densidade de nutrientes da dieta (Zanella et al. 1999). Uma metodologia de avaliação de enzimas foi proposta por Adedokun et al. (2004) e Jendza et al. (2006), nela os autores propõe dietas com níveis crescentes de fósforo e em um tratamento com níveis de inclusão de enzima (fitase). Por meio de regressão é estimado o valor que a enzima liberaria do nutriente. Essa metodologia que foi aplicada para verificar a liberação de P pela fitase, mas poderia ser adaptada para observar a energia liberada para outras enzimas utilizando outros parâmetros.

Dessa forma, apesar de amplamente discutido os efeitos da amilase na literatura, como demonstrado anteriormente, não há estudo demonstrando a equivalência energética da enzima. Dessa maneira, esse trabalho teve o objetivo de determinar a liberação de energia pela amilase em dietas à base de milho e farelo de soja utilizando frangos de corte em diferentes idades.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois experimentos com intuito de verificar o valor energético da amilase. Sendo que, o primeiro foi dividido em duas fases de desenvolvimento (1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade) o segundo foi realizado apenas na fase final (35 a 47 dias de idade). Os experimentos foram previamente aprovados pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias.

EXPERIMENTO 1 – Equivalência energética nas diferentes fases (1 a 21 e de 22 a 42 dias de idade)

Animais e local do experimento

As aves foram alojadas no galpão experimental da UFPR, divididos em boxes sobre cama de maravalha e dimensão de 1,65 m x 1,25 m, cada um deles provido com bebedouros do tipo nipple e comedouros tipo tubular com água e ração à vontade durante todo o período experimental. Foram utilizados 1200 pintos machos da linhagem Cobb com 1 dia de idade, divididos em 6 tratamentos, com 8 repetições de 25 aves cada.

Dietas experimentais

Foram utilizados seis tratamentos, sendo: cinco níveis de energia e um tratamento igual ao menor nível foi adicionado amilase (80 KNU/kg). Para obter os cinco níveis, foram formuladas duas dietas a base de milho e farelo de soja uma com 3150 kcal/kg de energia e outra com 2950 kcal/kg (Tabela 6). Posteriormente para fazer os outros três níveis energéticos (3100; 3050 e 3000 kcal/kg), a dieta mais energética foi diluída na de menor energia em diferentes proporções (Tabela 7). As dietas de 22 a 42 dias de idade foram feitas da mesma maneira, porém a energia das dietas eram 3070 e 3270 (Tabela 6). Dessa maneira os níveis intermediários eram 3120, 3170 e 3220.

Em um tratamento igual ao menor nível de energia, foi adicionado 80 KNU/kg de amilase (RONOZYME Histarch (CT), NOVOZYMES). Essa enzima é termotolerante contendo α -Amylase (IUB No. 3.2.1.1) produzida pela fermentação do microrganismo modificado geneticamente (*Bacillus licheniformis*). A atividade mínima da enzima é de 600 unidades kilo-novo (KNU) por grama. Uma KNU é a quantidade de enzima que libera em uma reação em duas etapas, 6 μ mol p-nitrofenol por minuto a partir de 1,86 mM de etiledeno-G7-p-nitrofenil-maltoheptaosídeo em pH 7,0 e 37°C. A enzima foi adicionada na dieta de maneira *on top* na dieta, ou seja, sem considerar valorização na formulação da ração.

Desempenho

As aves foram pesadas no alojamento (1 dia), aos 21 e 42 dias de idade. A ração foi pesada quando fornecida e as sobras foram pesadas aos 21 e 42 de idade. Pela diferença entre ofertado e sobras foi calculado o consumo de ração (CR = ração fornecida - sobras de ração / N° médio de aves do box). O ganho de peso médio foi calculado pelo

peso final subtraindo o peso inicial ($GP = (\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) / N^{\circ} \text{ médio de aves do box}$). A mortalidade foi verificada diariamente, mensurando o peso da ave morta. Com base nessas informações foi calculado a conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CA), conforme: $CA = CR / (GP + \text{peso mortalidade})$.

Analise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso. Os dados foram previamente analisados quanto à sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk e posteriormente os dados de níveis energéticos foram submetidos à análise de regressão linear e quadrática ($P < 0,05$). Os resultados obtidos com as variáveis independentes foram regredidos para variáveis dependentes, no caso energia, conforme o modelo:

$$Y = a + b \times X$$

No qual, **Y** seria o resultado encontrado para a variável, **a** a constante onde a regressão encontra o eixo Y e **b** é a inclinação da linha e **X** é o nível de energia. A equivalência foi calculada igualando a equação obtida com os níveis de energia com o resultado da variável dependente encontrado com a amilase. Essa equivalência energética da enzima é adaptação da metodologia realizada por Denbow et al. (1989), Adedokun et al. (2004) e Jendza et al. (2006). Colocando o Y (variável dependente) na equação é possível encontrar o valor X, que representa a energia equivalente ao liberado pela enzima, conforme exemplificado graficamente na Figura 6.

EXPERIMENTO 2 – Equivalência energética da amilase na fase final (35 a 47 dias de idade)

Animais e local do experimento

As aves foram alojadas nas mesmas condições do experimento 1. Foram utilizados 1000 frangos com 35 dias de idade, divididos em 5 tratamentos, com 8 repetições de 25 aves cada.

Dietas experimentais

As aves foram criadas até 35 dias com a mesma dieta e somente no 36º dia de idade começaram a ingerir a dieta experimental. Essas dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja com redução gradativa de 80 em 80 Kcal, sendo 3280, 3200, 3120 e 3040 kcal/kg, conforme tabela 8. Da mesma maneira do experimento anterior, em um tratamento igual ao menor nível de energia da dieta foi adicionado 80 KNU/kg de amilase, conforme tabela 9.

Desempenho

As aves e a rações (fornecimento e sobra) foram pesadas aos 35, 42 e 47 dias de idade. A mortalidade foi verificada diariamente, registrando o peso da ave morta. Com base nessas informações foi calculado o consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CA) da mesma maneira do experimento 1.

Digestibilidade

Para digestibilidade ileal (CDi) do amido disponível (AD), amido resistente (AR) e amido total (AT), da proteína bruta (PB) e da matéria seca (MS), foram abatidas 2 aves por deslocamento cervical, aos 47 dias de idade. Posteriormente foi separado o intestino das mesmas no qual a fração ileal foi definida como 4 cm abaixo do divertículo de Meckel e 4 cm acima da junção íleo-ceco-cólica. Todo o conteúdo do íleo foi retirado manualmente por compressão, com auxílio de tesouras e pinças e acondicionado em recipientes plásticos devidamente identificados. Em seguida, as amostras foram congeladas instantaneamente em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -18°C.

O conteúdo ileal foi liofilizado em frascos previamente congelados à -20°C, sendo então colocados nas bandejas do liofilizador (Liofilizador Modulyo D, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA) até a pressão de vácuo de 5×10^{-2} mbar. As amostras foram moídas em moinho tipo Willey com peneira com furos de 1 mm de diâmetro. Posteriormente, as excretas e as dietas experimentais foram submetidas à análise de energia bruta em bomba calorimétrica (model 1261, ParrInstrument Co., Moline, IL). Outra fração da amostra liofilizada, foi seca em estufa à 105°C para determinação da MS (AOAC, 1995). O conteúdo de CIA das dietas e do íleo foram analisados segundo metodologia descrita por Scott e Boldaji (1997). As dietas e o conteúdo ileal foram analisados quanto à proteína bruta (PB) e amido disponível (AD), amido resistente (AR) e amido total (AT) (AOAC, 2000).

A metabolizabilidade e a digestibilidade ileal da dieta foram calculadas utilizando o fator de indigestibilidade (FI): $FI = CIA \text{ dieta} / CIA \text{ excreta}$. O CDi da MS foi calculado segundo a equação: $CDiMS = 100 - FI$. A energia digestível (EDi) foi calculada por: EDi

= EB dieta – (EB conteúdo ileal x FI). O CDi da PB, do AD, do AR e do AT foram mensurado no conteúdo do íleo foi calculado por: $CDiPB = (PB \text{ dieta} - (PB \text{ conteúdo ileal} \times FI)) / PB \text{ da dieta} \times 100$.

Rendimento de carcaça e cortes

Para o rendimento de carcaça, duas aves foram selecionadas dentro de um desvio padrão da média de peso e foram pesadas e posteriormente eutanasiadas. Após a remoção das penas, cabeça, pés e vísceras, as carcaças foram imersas e resfriadas durante 60 minutos a 2°C. A carcaça e os cortes (peito, coxa + sobrecoxa) e gordura foram pesados para determinar o rendimento. O rendimento de carcaça (RC) foi realizado considerando a relação entre o peso da carcaça e o peso vivo do animal e expresso em percentual. Os rendimentos de peito (RP), rendimento de coxa e sobrecoxa (RC+S) e a gordura abdominal (GA) foram calculados pela relação entre os pesos dos cortes ou peso da gordura abdominal e o peso vivo da ave, também expresso em percentual.

Análise estatística

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso. Os dados foram submetidos à análise de regressão, conforme experimento 1 ($P < 0,05$) e quando significativos foi calculado a equivalência. A metodologia para estimar a equivalência energética da enzima da mesma maneira do experimento 1.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

EXPERIMENTO 1 – Equivalência energética nas diferentes fases (1 a 21 e 22 a 42 dias)

Desempenho

No experimento 1, a CA de 1 a 21 dias de idade, melhorou linearmente com o aumento da energia da dieta, conforme tabela 10 ($P<0,05$). Esses resultados são similares aos encontrados por Holsheimer e Ruenski (1993), que encontraram melhor CA em frangos alimentados com níveis energéticos maiores nas fases iniciais. Fazendo a equivalência da CA de 1 a 21 dias a enzima não apresentou valor positivo, sendo obtido como -5 kcal/kg, conforme tabela 13. Entretanto o valor é muito próximo de zero podendo ser considerado como se a enzima não liberasse energia nessa fase da vida do animal.

O resultado encontrado no presente estudo corrobora com Gracia et al. (2003) que ao avaliarem a CA de 1 a 21 dias de idade em dietas suplementadas com amilase, não encontraram diferenças. Gracia et al. (2009) também avaliando a inclusão de complexo enzimático contendo amilase nas fases iniciais encontraram apenas efeitos na CA 1 a 4 dias. Entretanto, os mesmos autores não encontraram diferenças da suplementação enzimática para os demais parâmetros de desempenho nas demais fases até 21 dias de idade.

O CR de 1 a 21 dias não foi afetado pelo nível de energia da dieta ($P>0,05$). Isso pode ser justificado por frangos nas fases iniciais terem o metabolismo acelerado e não conseguem regular o consumo pela energia da dieta (Scott et al., 1982). Em função das dietas com maiores níveis energéticos conterem em sua composição maior teor de óleo, pode ser que nas fases iniciais os animais não respondem a esse incremento pois somente após a terceira semana de vida as aves têm habilidade de digerir eficientemente lipídios (Maiorka et al., 2008).

Para GP de 1 a 21 dias de idade também não foi observado diferenças entre os diferentes níveis energéticos da dieta ($P>0,05$). Dessa maneira, o modelo utilizado não permite estimar a equivalência energética da dieta. Esses resultados corroboram com Leeson et al. (1996), que forneceram dietas com 2700 a 3200Kcal até os 25 dias de idade não encontraram diferenças de peso. Resultados semelhantes são relatados na literatura, em que aumentos de energia na dieta não resultariam em melhora de GP (Bacon et al., 1981; Reece e Mcnaughton, 1982). Isso poderia ser justificado pela ave nessa fase ter menor exigência de energia do que nas fases finais. Segundo Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2017), comparativamente a exigência de energia metabolizável no período de 1 a 7 para 43 a 46 dias de idade em frangos de corte é aumentada em cerca de 10% enquanto que a exigência de proteína cai cerca de 33%. Esse maior requerimento de proteína nas fases iniciais poderia justificar o porquê os animais não responderam aos níveis crescentes de energia nas fases iniciais.

Apesar das aves não terem respondido para níveis energéticos para CR e GP até 21 dias de idade, em alguns trabalhos são encontrados melhora de 3,5 a 4,5% no GP e 4 a 4,5% de aumento no CR (Gracia et al., 2003; Jiang et al. 2008). Por outro lado, Gracia et al. (2009) utilizando complexo enzimático contendo amilase, não observaram nenhum efeito no desempenho de aves até os 21 dias.

Quando o período final foi avaliado, de 22 a 42 dias de idade, foi encontrado aumento linear no CR e melhora linear na CA com o incremento de energia da dieta ($P<0,05$). Entretanto, no GP, não foram encontrados efeitos dos níveis crescentes de energia ($P>0,05$). Nessa fase, o frango conseguiu regular o consumo pela energia ingerida e manteve o ganho. Segundo Cota et al. (2006), existem sinalizadores que integram sinais intracelulares e hormonais que determinam o status energético do organismo, e isso pode influenciar o comportamento de ingestão das aves. Ou seja, em níveis energéticos mais

baixos as aves aumentaram o consumo para compensar esse déficit energético, mantendo a mesma ingestão de energia e consequentemente o mesmo GP.

Entretanto, mesmo compensando o consumo de ração, quando foi adicionado a enzima, as aves ingeriram menos ração no tratamento com enzima o que pode ser um indicio de que a enzima liberou energia. Fazendo a equivalência da enzima, os resultados do tratamento com amilase nas regressões são de cerca de 140 kcal utilizando o CR e isso se reflete na CA equivalendo à 125 kcal para o período de 22 a 42 dias de idade. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Gracia et al. (2003) e Onderci et al. (2006), que encontraram melhora de cerca de 3% na CA de frangos de 22 a 42 dias de idade.

No período total de criação da ave, de 1 a 42 dias de idade, a CA melhora linearmente com o aumento da energia ($P < 0,05$). Sendo que a equivalência da enzima utilizando CA é de 86 kcal, conforme figura 6. Isso pode ser em função principalmente da equivalência encontrada no período final da criação. Entretanto, não foi encontrado efeito dos níveis de energia no CR e nem no GP de frangos de 1 a 42 dias de idade ($P > 0,05$). Os mesmos autores citados anteriormente, encontraram resultados similares na melhora de parâmetros de desempenho de 1 a 42 dias de idade (Gracia et al., 2003; Onderci et al., 2006). Esses resultados provavelmente estão ligados com o aumento na digestibilidade da dieta.

EXPERIMENTO 2 – Equivalência energética da amilase na fase final (35 a 47 dias de idade)

Desempenho

No experimento 2, o GP de 35 a 42, de 43 a 47 e de 35 a 47 dias de idade aumentaram linearmente com o aumento de energia da dieta, conforme tabela 11 ($P<0,05$). Em função da melhora no GP, a CA de 35 a 42 e de 43 a 47 dias de idade dias de idade, melhorou linearmente com o aumento da energia ($P<0,05$).

Não foram encontrados efeitos dos níveis energéticos no CR ($P>0,05$). Isso pode ter ocorrido em função da saciedade pela limitação física do trato. O estiramento do papo é identificado por mecanoreceptores em suas paredes, que enviam informações através do nervo vago para SNC, inibindo a ingestão de alimentos (Denbow, 1989). Também há presença de receptores na moela, que estão relacionados com mistura e moagem dos alimentos e a motilidade gastrointestinal (Dukes, 2004). Isso ocorre em função da seleção genética de frangos de corte para crescimento rápido, que resultou em um animal com elevada voracidade (Siegel e Wisman, 1966), sendo que pelo menos 70% da variação genética de crescimento dos mesmos pode estar correlacionada com o consumo (Barbato, 1996). Dessa maneira, as aves em função de limitação física no trato não conseguiram aumentar o consumo de ração, e consequentemente, as que ingeriram as dietas mais concentradas, com maiores níveis energéticos, tiveram maior GP.

No GP de 35 a 42, de 43 a 47 e de 35 a 47 dias de idade as equivalências da enzima foram de 46, 82 e 40 kcal/kg, respectivamente, conforme tabela 13. Entretanto quando se observa a CA para os mesmos períodos, a amilase libera 63, 82 e 78 kcal/kg, respectivamente. Esse maior efeito da enzima nas fases finais pode ser explicado pelo

aumento na ingestão de amido nessa fase sem que a produção de enzima endógena aumente na mesma proporção, resultando em insuficiência do aparato enzimático, reduzindo a digestão desse composto (Noy e Skan, 1995; Mahagna et al., 1996).

Digestibilidade

Nos CDiMS, CDiAD, CDiAT e na EDi foram observados melhora linear com aumento da energia ($P<0,05$), conforme tabela 12. Para CDiAR o efeito para energia foi quadrático ($P<0,05$).

A equivalência energética encontrada para amilase foi de 39 kcal para CDiMS, de acordo com tabela 13. Esses dados corroboram com Zanella et al. (1999), que verificaram melhora no CDiMS utilizando complexo enzimático contendo amilase, protease e xilanase em dietas à base de milho e farelo de soja. Quando foi avaliado a amilase monocomponente, Gracia et al. (2003) encontraram melhora de 2,5% na digestibilidade da MS.

No presente estudo foi estimado 50, 87 e 61 kcal na CDiAD, CDiAR e CDiAT, respectivamente. Estes dados concordam com os encontrados na literatura que relatam aumento na digestibilidade da amilose, amilopectina e do amido total em frangos alimentados com dietas suplementadas com amilase monocomponente (Yuan et al., 2017). Avaliando somente o efeito da enzima sobre a digestibilidade do amido total, foi observado melhora de 0,7% a 1,8% (Gracia et al., 2003; Stefanello et al., 2015).

Na EDi foi estimado uma equivalência energética de 41 kcal. Na literatura, são relatadas melhora de 2 a 3% de melhora na EMA de dietas suplementadas com complexos multienzimáticos (Zanella et al., 1999; Douglas et al., 2000; Rutherford et al., 2007; Stefanello et al., 2015). Utilizando a amilase monocomponente, foi observado melhora

de 1,7 a 3% na EMA da dieta (Gracia et al., 2003; Stefanello et al., 2015). O aumento na energia da dieta provavelmente está relacionado com a melhoria da digestibilidade, e segundo Zanella et al. (1999) também pode estar relacionado com redução do turnover celular. Outro fator que pode contribuir para a melhora da energia é o possível aumento de comprimento de vilosidade intestinal nas aves causado pela suplementação de enzimas exógenas (Ritz et al. 1995; Onderci et al., 2006). Isso aumenta a área de absorção resultando em aumento da digestibilidade (Caspary, 1992), resultando em uma maior energia disponível para outras funções da ave.

Além disso, o amido que não é digerido pela ave pode servir como substrato para fermentação pelas bactérias. Esse processo apesar de poder gerar até 11% da energia das aves (Annison et al., 1968), a energia tem menor aproveitamento pela ave do que a digestão enzimática na fração superior do intestino (Dierick et al., 1989). Como consequência, a digestão do amido enzimática ou pela fermentação pode gerar os mesmos valores de digestibilidade, mas na digestão na fração proximal (jejuno e íleo) a energia aproveitada é maior (Weurding et al., 2001).

Rendimentos

Para os parâmetros de rendimentos, foi encontrado aumento linear na GA com aumento de energia da dieta, conforme tabela 12 ($P < 0,05$). Também foi encontrado efeito quadrático no RP ($P < 0,05$). Esses dados corroboram com Leeson et al. (1996), que ao avaliarem níveis crescentes de energia, de 2700 a 3300 kcal também não encontraram diferença na carcaça, entretanto observaram maior acúmulo de gordura na carcaça de frangos consumindo dietas com níveis de energéticos mais altos. Holsheimer e Ruenski

(1993) verificaram o mesmo efeito, maior deposição de gordura na carcaça quando aumentaram de 2750 para 3250 kcal na dieta.

A equivalência da enzima para GA foi de 7 Kcal. Essa energia extra, que a enzima liberaria pela melhora na digestibilidade, se reflete na deposição de gordura. Segundo Lemme et al. (2006), a ingestão de nutrientes acima do necessário para manutenção e crescimento é depositado na forma de gordura abdominal em frangos. Por outro lado, a equivalência para RP foi de 34 kcal. Esses dados estão de acordo com Zanela et al. (1999), que não encontraram efeito das enzimas nos rendimentos de carcaça e nem nos cortes.

CONCLUSÃO

Os maiores valores de equivalência foram encontrados nas fases finais de criação em que no desempenho pode-se encontrar cerca de 132 Kcal/kg de MS de equivalência energética da enzima com parâmetros de desempenho. Entretanto, considerando os diversos parâmetros avaliados em todas as fases, a média de equivalência da amilase foi de 59 kcal.

REFERÊNCIAS

- Adedokun SA, Sands JS, Adeola O (2004) Determining the equivalent phosphorus released by an *Escherichia coli*-derived phytase in broiler chicks. *Canadian Journal of Animal Science* 84, 437–444.
- Annison, E.F., K. J. Hill, R. C. Kenworthy. 1968. Volatile fatty acids in the digestive tract of the fowl. *British Journal of Nutrition* 22: 207-216.
- Association of the Official Analytical Chemists International. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. AOAC Int., Arlington, VA

- Association of the Official Analytical Chemists. 1995. Official Methods of Analysis, 16.ed. AOAC, Washington, DC.
- Bach Knudsen, K. E. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 67:319–338.
- Bacon, WL., Cantor, AH, Coleman, MA. 1981. Effect of dietary energy environment and sex of market broilers on lipoprotein composition. *Poult. Sci.*, 60:1282-1286.
- Barbato, GF. 1996. Genetic control of food intake in chickens. *Journal of Nutrition* 124: 1341s-1348s.
- Caspary W. F. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 299–308.
- Cota D., et al. 2006. Hypothalamic mTOR signaling regulates food intake. *Science* 312:927-933.
- Denbow D. M. 1989. Peripheral and central control of food intake. *Poultry Science*. 68:938-947.
- Dierick, N. A. et al. 1989, Approach to the energetic importance of fibre digestion in pigs. I. Importance of fermentation in the overall energy supply. *Anim. Feed Sci. Technol.* 23, 141–167.
- Douglas, M.W., C.M. Parsons, M.R.Bedford. 2000. Effect of various soybean meal sources and avizyme on chick growth performance and ileal digestible energy. *J. Appl. Poult. Res.* 9,74–80.
- Dukes HH. 2004. *Duke's Physiology of domestic animals*. 12 ed. Cornell University Press: New York, 999p.
- Gracia, M.I. et al. 2003. α -amilase supplementation of broiler diets based on corn. *World's Poultry Science Journal*. 82, 436-442.
- Gracia, MI, et al. 2009. Influence of enzyme supplementation of diets and cooking-flaking of maize on digestive traits and growth performance of broilers from 1 to 21 days age. *Animal Feed Science and Technology* 150:303–315.
- Holsheimer, JP, Ruenski, EW. 1993. Effect on performance, carcass composition, yield, and financial return of dietary energy and lysine levels in starter and finisher diets fed to broilers. *Poult. Sci.*, 72:806-815.
- Jendza JA, Dilger RN, Sands JS, Adeola O (2006) Efficacy and equivalence of an *Escherichia coli*-derived phytase for replacing inorganic phosphorus in the diets of broiler chickens and young pigs. *Journal of Animal Science* 84, 3364–3374.

- Jiang, Z., Y. Zhou, F. Lu, Z. Han, and T. Wang. 2008. Effects of different levels of supplementary alpha-amylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 21, 97–102.
- Kaczmarek, S. A., A. Rogiewicz, M. Mogielnicka, A. Rutkowski, R. O. Jones, and B. A. Slominski. 2014. The effect of protease, amylase, and nonstarch polysaccharide-degrading enzyme supplementation on nutrient utilization and growth performance of broiler chickens fed corn-soybean meal-based diets. *Poult. Sci.* 93:1745–1753.
- Leeson, S., Caston, L., Summers, J.D. 1996. Broiler response to diet energy. *Poult. Sci.*, 75:529-535.
- Lemme, A.; Wijten, P.J.A.; Van Wichen, J. 2006. Responses of male growing broilers to increasing levels of balanced protein offered as coarse or pellets of varying quality. *Poultry Science*, Champaign, v.85, p.721-730.
- Mahagna, M., I. Nir, M. Larbier, and Z. Nitsan. 1995. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 201–212.
- Maiorka, A. et al. 2008. Energy and oil levels in broiler starter diets. *Ciência Rural*, 38:4, p.1099-1104.
- Meng, X., B. A. Slominski. 2005. Nutritive values of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chickens as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. *Poult Sci.* 84, 1242–1251.
- Noy, Y., Sklan, D. 1995. Digestion and absorption in the young chick . *Poult. Sci.* 74:366-373.
- Onderci M, et al. 2006. Efficacy of supplementation of α -amylase-producing bacterial culture on the performance, nutrient use, and gut morphology on broiler chickens fed a corn-based diet. *Poultry Science*. 85:505-510.
- Reece, F.N., Macnaughton, J.L. 1982. Effects of dietary nutrient density on broiler performance at low moderate environment temperatures. *Poult. Sci.*, 61:2208-2211.
- Ritz, C. W., R. M. Halet, B. B. Self and D. M. Denbow. 1995. Endogenous amylase levels and response to supplementation feed enzymes in male turkeys from hatch to eight weeks of age. *Poult. Sci.* 74, 1317-1322.
- Scott, T.A., F. Boldaji. 1997. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash (Celite™)] for determining apparent metabolizable energy of wheat- or barley-based broiler diets with or without enzymes. *Poultry Science*. 76, 594-598.

- Scott, M.L. ; Nesheim, M.C. ; Young, R.J., 1982. Nutrition of chicken. ML Scott and Associates publishers, Ithaca, NY
- Siegel P.B.; E.L. Wisman. 1966. Selection for body weight at eught weeks of age. Changes in appetite and feed utilization. World's Poultry Sciece Journal 45:1391-1397.
- Stefanello, C. et al. 2015. Starch digestibility, energy utilization and growth performance of broilers fed cornsoybean basal diets supplemented with enzymes. Poult. Sci. 94, 2472–2479.
- Svihus, B. 2014. Starch digestion capacity of poultry. Poult. Sci. 93:2394–2399.
- Tabelas Brasileiras de Composição de alimentos e exigências nutricionais: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. Rostagno, H. S. et al. 4^oed.Viçosa: UFV, 2017. 488.
- Uni, Z., Y. Noy, D. Sklan.1995. Post hatch changes in morphology and function of small intestines in heavy ans light strain chicks. Poultry Science. 74, 1622-1629.
- Weurding, R.E et al. 2001. Starch digestion rate in the small intestine of broiler chickens differ among feedstuffs. J. of Nutri. 131, 2329-2335.
- Yuan, J. et al. 2017. Effect of different amylases on the utilization of cornstarch in broiler chickens. Poultry Science 96:1139–1148
- Zanella, I., N. K. Sakomura, F. G. Silversides, A. Figueirido, and M. Pack. 1999. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. Poult. Sci. 78, 561–568.
- Zhang, G. G., Z. B. Yang, Q. Q. Zhang, W. R. Yang, and S. Z. Jiang. 2012. A multienzyme preparation enhances the utilization of nutrients and energy from pure corn and wheat diets in broilers. J. Appl. Poult. Res. 21, 216–225.
- Zou XT, Qiao XJ, Xu ZR . 2006. Effect of β -Mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. *Poultry Science* **85**, 2176–2179.

Tabela 6. Composição das dietas do experimento 1.

Ingredientes	1 a 21 dias de idade		22 a 42 dias de idade	
	3150 kcal/kg	2950 kcal/kg	3270 kcal/kg	3070 kcal/kg
Milho	55,50	55,13	58,94	58,29
Farelo soja	37,00	37,00	32,80	32,90
Caulim ¹	-	2,500	-	2,600
Óleo soja	4,150	2,030	5,360	3,290
Calcário	1,310	1,300	1,190	1,190
Fosfato bicálcio ²	0,880	0,880	0,560	0,560
Sal comum	0,450	0,450	0,450	0,460
DL-metionina	0,275	0,275	0,240	0,245
L-lisina	0,150	0,150	0,160	0,160
Premix vitamínico ³	0,100	0,100	0,100	0,100
Cloreto de colina	0,083	0,083	0,102	0,102
Premix mineral ⁴	0,050	0,050	0,050	0,050
Treonina	0,035	0,035	0,034	0,034
Fitase	0,010	0,010	0,010	0,010
Total	100	100	100	100
Níveis de garantia				
Proteína bruta	22,204	22,177	20,418	20,422
Extrato etereo	6,788	4,674	8,071	5,997
Fibra bruta	2,512	2,507	2,383	2,377
Cálcio	0,890	0,887	0,76	0,761
Fósforo total	0,513	0,512	0,436	0,435
Fósforo disponível	0,439	0,439	0,371	0,37
Sódio	0,199	0,199	0,198	0,202
Lisina	1,354	1,353	1,244	1,246
Mat. Mineral	5,397	7,883	4,755	7,364
Energia met aves	3150	2951	3271	3069
Umidade	11,332	11,285	11,28	11,21

¹Marcador indigestível (Celite, Celite Corp., Lompoc, CA).

²Composição: 0.013% de Cl; 24.00% de Ca; 18.5% de aP; 0.1 de K; 0.06 de Na.

³Concentração por kg: iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg.

⁴Suplementação por kg: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg.

Tabela 7. Dietas experimentais experimento 1

1 a 21 dias de idade		
Tratamentos	Energia	Diluições das dietas
200	3150 Kcal	100% dieta 3150 kcal/kg
150	3100 Kcal	75% dieta 3150 kcal/kg e 25% dieta 2950 kcal/kg
100	3050 Kcal	50% dieta 3150 kcal/kg e 50% dieta 2950 kcal/kg
50	3000 Kcal	25% dieta 3150 kcal/kg e 75% dieta 2950 kcal/kg
0	2950 Kcal	100% dieta 2950 kcal/kg
0 + Amilase	2950 Kcal	100% dieta 2950 kcal/kg + amilase
22 a 42 dias de idade		
Tratamentos	Energia	Diluições das dietas
200	3270 Kcal	100% dieta 3270 kcal/kg
150	3120 Kcal	75% dieta 3270 kcal/kg e 25% dieta 3070 kcal/kg
100	3050 Kcal	50% dieta 3270 kcal/kg e 50% dieta 3070 kcal/kg
50	3000 Kcal	25% dieta 3270 kcal/kg e 75% dieta 3070 kcal/kg
0	3070 Kcal	100% dieta 3070 kcal/kg
0 + Amilase	3070 Kcal	100% dieta 3070 kcal/kg + amilase

Tabela 8. Dietas experimentais experimento 2.

Composição da dieta (g/kg diet)	Energy level (kcal/kg diet)			
	3040	3120	3200	3280
Milho	582.2	582.2	582.2	582.2
Farelo de soja	306.3	306.3	306.3	306.3
Óleo de soja	43.1	52.2	61.3	70.5
Caulim	30.0	20.9	11.8	2.6
Celite ¹	10.0	10.0	10.0	10.0
Fósforo bicálcio ²	10.2	10.2	10.2	10.2
Calcario	8.0	8.0	8.0	8.0
Sal (NaCl)	3.8	3.8	3.8	3.8
Premix Mineral ³	0.5	0.5	0.5	0.5
Premix Vitaminico ⁴	0.8	0.8	0.8	0.8
L-Lisina	2.1	2.1	2.1	2.1
DL- Metionina	2.2	2.2	2.2	2.2
L-Treonina	0.7	0.7	0.7	0.7
BHT	0.1	0.1	0.1	0.1
Composição nutricional calculada (g/kg diet)				
EMA (kcal/kg diet)	3040	3120	3200	3280
Proteína Bruta	182	182	182	182
Cinzas	46.9	32.7	18.4	4.1
Extrato etéreo	69.1	83.8	98.4	113.0
Cálcio	6.4	6.4	6.4	6.4
Fósforo total	5.3	5.3	5.3	5.3
Fósforo disponível	3.0	3.0	3.0	3.0
Sódio	1.6	1.6	1.6	1.6
Lisina digestível	10.1	10.1	10.1	10.1
Metionina digestível	4.6	4.6	4.6	4.6
Met + cis digestível	7.4	7.4	7.4	7.4
Treonina Digestível	6.6	6.6	6.6	6.6
Triptofano digestível	1.9	1.9	1.9	1.9

¹Marcador indigestível (Celite, Celite Corp., Lompoc, CA).

²Composição: 0.013% de Cl; 24.00% de Ca; 18.5% de aP; 0.1 de K; 0.06 de Na.

³Concentração por kg: iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg.

⁴Suplementação por kg: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg.

Tabela 9. Dietas experimentais dos frangos de corde de 35 a 47 dias de idade no experimento 2.

Tratamentos	Energia
240	3280 kcal
160	3200 kcal
80	3120 kcal
0	3040 kcal
0 + A	3040 kcal + Amilase

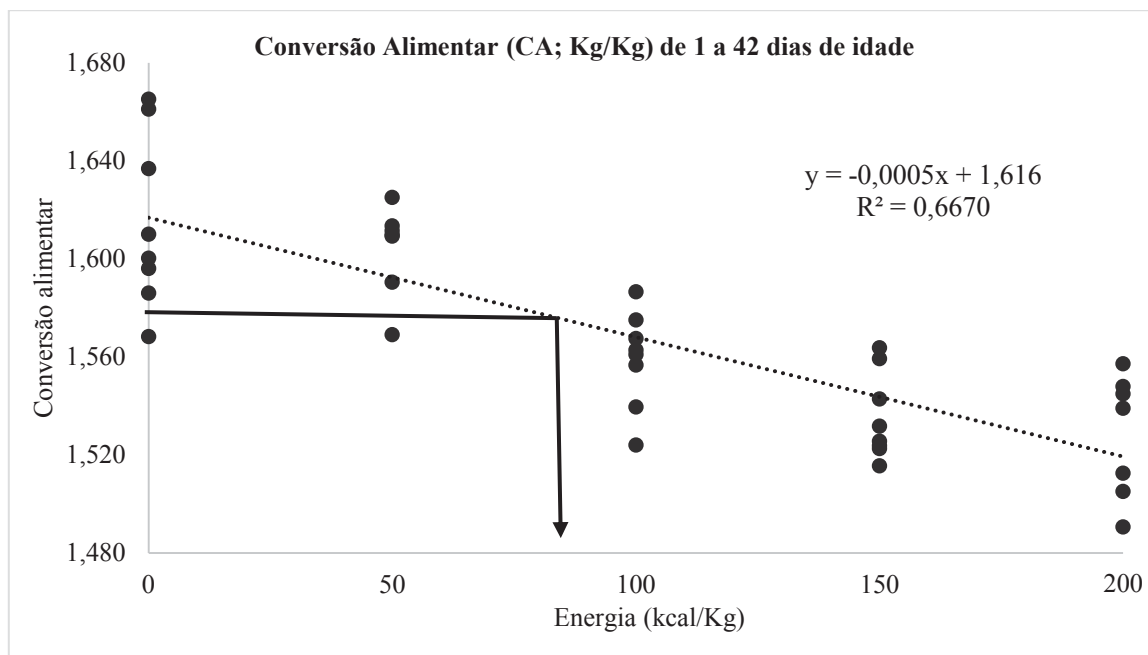


Figura 6. Demonstração gráfica do cálculo de equivalência energética da amilase utilizando a regressão linear da conversão alimentar de 1 a 42 dias de idade. Com o **Y** da equação conhecido (média da variável analisada com enzima) pode-se determinar o **X**, que seria a equivalência energética.

Tabela 10. Consumo de ração (CR; kg), ganho de peso (GP; kg) e conversão alimentar (CA; kg/kg) de frangos de corte de 1 a 21, de 22 a 42 e de 1 a 42 dias de idade alimentados com dietas com níveis decrescentes de energia, e um tratamento com menor nível de energia com amilase.

Energia (kcal/kg)	1 a 21 dias de idade			22 a 42 dias de idade			1 a 42 dias de idade		
	CR	GP	CA	CR	GP	CA	CR	GP	CA
200	0,933	0,658	1,419	3,143	2,004	1,569	4,078	2,662	1,528
150	0,934	0,650	1,438	3,127	2,001	1,563	4,071	2,651	1,536
100	0,937	0,644	1,453	3,104	1,956	1,587	4,054	2,600	1,559
50	0,921	0,616	1,494	3,278	1,990	1,648	4,213	2,607	1,604
0	0,940	0,624	1,505	3,286	1,997	1,646	4,235	2,622	1,616
0 + A	0,932	0,616	1,510	3,150	1,984	1,588	4,093	2,601	1,574
CV(%)	5,25	5,45	1,93	3,25	3,29	2,50	3,16	3,15	1,55
<i>Regressão</i>									
Linear	0,999	0,179	<0,001 ¹	0,015 ²	0,998	<0,001 ³	0,079	0,774	<0,001 ⁴
Quadrática	0,999	0,999	0,999	0,535	0,749	0,956	0,778	0,907	0,938

$$^1y = -0,0005x + 1,5076, R^2 = 0,5885;$$

$$^2y = -0,0009x + 3,2756, R^2 = 0,2483;$$

$$^3y = -0,0005x + 1,6503, R^2 = 0,4116;$$

$$^4y = -0,0005x + 1,6168, R^2 = 0,6671.$$

Tabela 11. Consumo de ração (CR; g), ganho de peso (GP; g) e conversão alimentar (CA; g/g) de frangos de corte de 35 a 47 dias de idade alimentados com dietas com níveis decrescentes de energia, e um tratamento com menor nível de energia com amilase.

[illegible]

Tabela 12. Coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca (CDiMS), da proteína bruta (CDiPB), do amido disponível (CDiAD), do amido resistente (CDiAR) e do amido total (CDiAT) e energia digestível ileal (EDI), rendimento de carcaça (RC, %), rendimento de peito (RP, %), rendimento de coxa e sobrecoxa (RC+S) e gordura abdominal (GA) de frangos de corte aos 47 dias de idade alimentados com dietas com níveis decrescentes de energia, e um tratamento com menor nível de energia com amilase.

Energia (kcal/kg)	Digestibilidade ileal (%)							Rendimentos (%)			
	CDiMS	CDiPB	CDiAD	CDiAR	CDiAT	EDI (kcal/kg de MS)	RC	RP	RC+S	GA	
240	82,55	89,35	97,39	80,38	96,40	4211	80,30	29,69	22,02	1,35	
160	80,34	88,16	96,27	82,07	95,45	4073	80,64	30,40	21,25	1,31	
80	79,93	88,90	94,77	82,86	93,83	3837	80,00	30,72	21,58	1,26	
0	78,45	88,87	95,54	78,17	94,38	3731	80,11	29,81	21,56	0,93	
0 + A	79,02	87,93	95,38	82,73	94,45	3781	80,37	30,26	21,32	1,03	
CV(%)	3,22	2,28	1,83	4,54	1,84	5,51	2,35	3,32	4,04	30,69	

Regressão

Linear

0,0002¹ 0,8050 0,0029² 0,2485 0,0013⁴ <0,0001⁵ 0,6741 0,6613 0,4395 0,0228⁷

Quadrática

0,5938 0,3597 0,0629 0,0078³ 0,1339 0,6677 0,8623 0,0196⁶ 0,1953 0,2425

¹y = 0,0158x + 78,409; R²=0,3055

²y = 0,0089x + 94,928; R²= 0,2131

³y = -0,0002x²+ 0,0671x + 78,396; R²= 0,2186

⁴y = 0,0097x + 93,862; R²= 0,2499

⁵y = 2,1203x + 3694,3; R²= 0,8164

⁶y = -0,000006x² + 0,0142x + 29,859; R²= 0,1685

⁷y = 0,0016x + 1,019; R²= 0,1557

Tabela 13. Equivalência da enzima utilizando os diferentes parâmetros significativos para as regressões.

Parâmetro avaliado	Regressão	Equação	R ²	Valor com enzima	Equivalência (kcal)
CA 1 a 21 (1° Experimento)	Linear	$y = -0,0005x + 1,5076$	0,5885	1,510 (kg/kg)	-5
CR 22 a 42 (1° Experimento)	Linear	$y = -0,0009x + 3,275,6$	0,2483	3,150 (kg)	140
CA 22 a 42 (1° Experimento)	Linear	$y = -0,0005x + 1,6503$	0,4116	1,588 (kg/kg)	125
CA 1 a 42 (1° Experimento)	Linear	$y = -0,0005x + 1,6168$	0,6671	1,574 (kg/kg)	86
GP 35 a 42 (2° Experimento)	Linear	$y = 0,001x + 0,805$	0,3690	0,851 (kg)	46
CA 35 a 42 (2° Experimento)	Linear	$y = -0,001x + 1,813$	0,5790	1,750 (kg/kg)	63
GP 43 a 47 (2° Experimento)	Linear	$y = 0,0001x + 0,4878$	0,2619	0,496 (kg)	82
CA 43 a 47 (2° Experimento)	Linear	$y = -0,0006x + 2,1481$	0,1696	2,135 (kg/kg)	22
GP 35 a 47 (2° Experimento)	Linear	$y = 0,001x + 1,294$	0,4570	1,334 (kg)	40
CA 35 a 47 (2° Experimento)	Linear	$y = -0,001x + 1,937$	0,4550	1,859 (kg/kg)	78
CDAiMS (2° Experimento)	Linear	$y = 0,0158x + 78,409$	0,3055	79,02 (%)	39
CDAiAD (2° Experimento)	Linear	$y = 0,0089x + 94,928$	0,2131	95,38 (%)	50
CDAiAR (2° Experimento)	Quadrática	$y = -0,0002x^2 + 0,0671x + 78,396$	0,2186	82,73 (%)	87
CDAiAT (2° Experimento)	Linear	$y = 0,0097x + 93,862$	0,2499	94,45 (%)	61
EDi (2° Experimento)	Linear	$y = 2,1203x + 3694,3$	0,8164	3781 (Kcal)	41
RP (2° Experimento)	Quadrática	$y = -0,000006x^2 + 0,0142x + 29,859$	0,1685	30,26 (%)	34
GA (2° Experimento)	Linear	$y = 0,0016x + 1,019$	0,1557	1,03 (%)	7
Média					59

CAPÍTULO 4. Interação da amilase exógena e processamento térmico em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte.

INTERAÇÃO AMILASE E PROCESSAMENTO

Interação da amilase exógena e processamento térmico em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte.

V. G. Schramm^{*1}, A. Massuquetto^{*}, J.C. Panison^{*}, A. Cowieson[§], A. P. Félix^{*} and A. Maiorka^{*}

^{*}Department of Animal Science, Federal University of Paraná, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, UFPR. Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, Brazil; [†]DSM Nutritional Products, Av. Engº Billings, 1729, São Paulo, SP, Brazil; [§]DSM Nutritional Products, Wurmisweg 576, 4303 Kaiseraugst, Switzerland

¹Corresponding author: schrammvgs@gmail.com

Vinícius Gonsales Schramm – Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, UFPR. Rua dos Funcionários, 1540, Juvevê, Curitiba, PR, Brazil. CEP 82050-035 .Tel +0055 41 97163019

Scientific section: Metabolism and Nutrition

RESUMO O amido é a principal fonte de energia da dieta, entretanto parte dessa fração não é digerida pela ave. Uma maneira de melhorar essa digestibilidade pode ser adicionando amilase exógena nas dietas. Outra forma seria o processamento térmico das dietas que é amplamente utilizado na avicultura e pode tornar o amido mais acessível para enzimas digestivas. O objetivo foi verificar a interação da amilase com processamento térmico em dietas para frangos de corte na fase final (35 a 47 dias). Os tratamentos foram dieta farelada; farelada com amilase (80 KNU/Kg); peletizada; e peletizada com amilase. Foram mensurados: consumo de ração (CR), ganho de peso (GP) e conversão alimentar (CA), CA ajustada para peso (CAJ), digestibilidade ileal (CDi) da MS, da PB, do amido disponível (AD), do amido resistente (AR), do amido total (AT), energia digestível ileal (EDI), rendimento de carcaça (RC), rendimento de peito (RP), rendimento de coxa e sobre-coxa (RC+S), e gordura abdominal (GA). Foi encontrado interação entre amilase e peletização no CDi da PB ($P<0,05$). Frangos que ingeriram dietas peletizadas apresentaram maior CR e GP em todos os períodos avaliados e melhor CA e CAJ de 35 a 42 dias de idade ($P<0,05$). Porém de 43 a 47 dias foi encontrado piora na CA e na CAJ ($P<0,05$) e de 35 aos 47 dias não foi observado efeito da peletização na CA e na CAJ ($P>0,05$). A amilase melhorou o CR e o GP de 35 aos 42 dias ($P<0,05$). A amilase melhora o CDi da MS e do AR e por consequência a EDI ($P<0,05$). A peletização piora o CDi da MS e do AR ($P<0,05$) e melhora a EDi ($P<0,05$). No entanto, para CDi do AD e do AT não foi observado efeito da enzima e nem da peletização. Os animais alimentados com dietas peletizadas apresentaram maior GA ($P<0,05$). Para os demais parâmetros não foram encontrados efeitos do processamento térmico e nem da amilase ($P>0,05$). Dessa maneira, a amilase e o processamento térmico interagem de forma positiva, podendo trazer benefícios para frangos de corte na fase final.

Palavras-chave: amido, enzima, energia, digestibilidade

INTRODUÇÃO

O amido é a principal fonte energética de dietas à base de milho e farelo de soja para frangos de corte, gerando mais da metade da energia metabolizável (Weurding et al., 2003). Normalmente é um composto considerado de elevada energia, sendo seu valor de digestibilidade controverso. Segundo Gracia et al. (2003), essa digestibilidade chega a 95%, entretanto, para Soto-Salanova et al. (1996), é de 85%. Essa variação pode ser em função de muitos fatores: variedade cultivar, condições de cultivo da planta, arranjo espacial dos polímeros de amido, sendo a amilopectina mais fácil de ser digerida que a amilose. A amilose pode em estado natural formar uma dupla hélice perfeita (pontes de hidrogênio) com alta coesão entre as moléculas (Burleon et al., 1998) e isso pode dificultar o acesso de enzimas digestivas, podendo prejudicar a digestão. Em função disso e de outros fatores supracitados, há uma fração do amido que não é digerida pelo intestino delgado, denominada de amido resistente (AR) (Englyst et al., 1982).

Outro fator que pode limitar a digestibilidade é que em animais jovens, as enzimas necessárias para a digestão, não estejam em quantidade suficiente, reduzindo o potencial de aproveitamento de energia para as aves a partir da hidrólise de amido (Sklan et al., 2003). Apesar de Moran (1985) afirmar que a produção de enzima está ligada com o substrato, Noy e Skan (1995) e Mahagna et al. (1995), observaram que a produção de amilase endógena não está correlacionada com níveis de ingestão de amido, pois nas fases finais o frango aumenta a ingestão de amido e pode não aumentar na mesma proporção a sua produção enzimática. Uma maneira para contornar essa deficiência seria adicionando amilase exógena nas dietas dessas aves. A suplementação de amilase exógena pode melhorar a digestibilidade do amido e consequentemente da matéria orgânica e a EM (Isaksen et al., 2011; Gracia et al., 2003). Em decorrência desse melhor aproveitamento

da dieta, o desempenho de frangos de corte também pode ser melhorado (Gracia et al., 2003).

Outro processo que pode trazer benefícios para produção avícola é a peletização que é um processamento térmico da dieta que consiste na formação de aglomerados por meio de ação mecânica, em combinação com umidade, pressão e temperatura (70 a 90°C). Ao final desse processo, as partículas dos ingredientes são convertidas em estruturas maiores denominadas peletes. O processo térmico na fabricação de rações pode trazer vantagens para a digestibilidade, em função da temperatura, umidade e pressão resultando na gelatinização do amido (Tester et al. 2004). Nessa reação, os grânulos de amido incham e há a ruptura da estrutura granular (Bello-Pérez et al. 2006), facilitando a atuação de enzimas digestivas (Carré, 2004). Outra vantagem da peletização é aumentar o consumo das dietas (Meinerz et al., 2001; Svihus, 2004; Abdollahi et al., 2013). Isso poderia ser justificado principalmente pela facilidade de apreensão da dieta em função da sua forma física (Jensen et al., 1962). A facilidade de ingestão também faz com que frangos de corte gastem menos tempo consumindo ração peletizada e apresentam maior frequência de descanso em comparação àquelas que consomem dietas fareladas podendo resultar em mais energia para ave (Mckinney and Teeter, 2004; Skinner- Noble et al. 2005).

Tanto a peletização quanto a suplementação com amilase podem apresentar benefícios. Entretanto, ainda não há estudos da interação desse processamento com a amilase. Dessa maneira, o objetivo desse trabalho foi avaliar a interação entre a peletização e a utilização de amilase em dietas a base de milho e farelo de soja para frangos de corte na fase final de criação.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi previamente aprovado pela Comissão de Ética ao Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias.

Animais e local do experimento

As aves foram alojadas em galpão experimental com boxes com dimensão de 1,65 m x 1,25 m providos de cama de maravalha, bebedouros do tipo nipple e comedouros tubulares, com ração e água à vontade. Foram utilizados 800 pintos Cobb® 500 com 35 dias de idade, divididos em 4 tratamentos, com 8 repetições de 25 aves cada. Durante os 2 primeiros dias foi utilizada luz incandescente contínua (24 h) e após esse período foi utilizado programa de luz com 10 horas de escuro por dia. A temperatura foi verificada com auxílio de termômetros, e foi controlada por meio de resistências elétricas, e abertura de janelas, mantida ao primeiro dia a temperatura de 31°C e gradativamente sendo diminuída até 22°C aos 21 dias de idade.

Dietas experimentais

As dietas eram isonutritivas formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com tabela 14. Diferindo entre si por serem fareladas ou peletizadas, sem e com amilase, totalizando as 4 dietas experimentais, conforme tabela 15. A amilase foi adicionada na dieta em 80 KNU/kg (unidades kilo-novo por quilograma; RONOZYME Histarch (CT), NOVOZYMES). A enzima era termotolerante contendo α -Amylase (IUB No. 3.2.1.1) produzida pela fermentação do microrganismo modificado geneticamente (*Bacillus licheniformis*). A atividade mínima garantida da enzima é de 600 KNU/g. Uma

GNU é a quantidade de enzima que libera em uma reação em duas etapas, 6 μmol p-nitrofenol por minuto a partir de 1,86 mM de etileno-G7-p-nitrofenil-maltoheptaosídeo em pH 7,0 e 37°C.

Para a fabricação das dietas peletizadas, foi utilizada a peletizadora a vapor (Koppers Júnior C40 - Koppers Company, Inc. Pittsburgh, PA, USA), com motor de 50 CV da marca Siemens e anel com furos de diâmetro de 3/16 polegadas. O tempo de condicionamento foi de 10 segundos com temperatura de 75°C. Após o processo de peletização as dietas foram secas e resfriadas à temperatura média de 37°C. Ao término do processo de manufatura, amostras de cada tratamento foram coletadas para realização das análises físico-químicas.

Qualidade física da ração

Com a finalidade de mensurar a quantidade de finos das dietas peletizadas, oito amostras de 200 g foram pesadas, peneiradas em peneira com abertura de 4 mm por 30 segundos, e a ração que permaneceu na peneira foi novamente pesada para calcular a porcentagem de peletes e pela a diferença o percentual de finos. Para calcular o índice de durabilidade dos peletes (PDI), as amostras, sem finos, foram submetidas a tombamento durante 10 minutos e rotação de 50 rpm. A análise de dureza foi realizada em durômetro (Nova Ética®, modelo 298 DGP - Ethiktechnology, São Paulo, Brazil) com peletes individuais (cinco por tratamento).

Desempenho

As aves começaram a ingerir as dietas experimentais aos 35 dias de idade. As aves e a ração foram pesadas aos 35, 42 e 47 dias de idade. A mortalidade foi verificada diariamente, registrando o peso da ave morta. Com base nessas informações foi calculado o consumo de ração (CR) e ganho de peso (GP). A conversão alimentar corrigida pela mortalidade (CA) foi calculada utilizando a relação entre CR e GP somado ao peso das aves mortas (PMort) ($CA = CR/[GP+PMort]$). Para a conversão alimentar ajustada (CAJ) foi gerada uma equação considerando o peso vivo das aves de acordo com a conversão alimentar preconizada no manual da linhagem Cobb 500 para 3000g (para animais de 42 dias de idade) e 3500g (para animais de 47 dias de idade), da seguinte maneira: $CAJ = (((Peso\ desejado - Peso\ real)/50) * (19,1/2))/1000 + CA$.

Digestibilidade

Para digestibilidade ileal do amido disponível (AD), amido resistente (AR) e amido total (AT), da proteína bruta (PB), da matéria seca (MS) e energia digestível (ED) e proteína bruta (PB), aos 47 dias de idade, foram abatidas 2 aves por deslocamento cervical, e posteriormente separou-se o intestino das mesmas. A fração ileal foi definida como 4 cm abaixo do divertículo de Meckel e 4 cm acima da junção íleo-ceco-cólica. Todo o conteúdo do íleo foi retirado manualmente por compressão, com auxílio de tesouras e pinças e acondicionado em recipientes plásticos devidamente identificados. Em seguida, as amostras foram congeladas instantaneamente em nitrogênio líquido e armazenadas em freezer a -18°C.

O conteúdo ileal foi liofilizado em frascos previamente congelados à -18°C, sendo então colocados nas bandejas do liofilizador (Liofilizador Modulyo D, Thermo Electron

Corporation, Waltham, MA, USA) até a pressão de vácuo de 5×10^{-2} mbar. As amostras foram moídas em moinho tipo Willey com peneira com furos de 1 mm de diâmetro. Posteriormente, as excretas e as dietas experimentais foram submetidas à análise de energia bruta (EB) em bomba calorimétrica (model 1261, ParrInstrument Co., Moline, IL). Outra fração da amostra, foi seca em estufa à 105°C para determinação da MS (AOAC, 1995). O conteúdo de CIA das dietas e do íleo foram analisados segundo metodologia descrita por Scott e Boldaji (1997). As dietas e o conteúdo ileal foram analisados quanto à PB, AD, AR e AT (AOAC, 2000).

A metabolizabilidade e a digestibilidade ileal da dieta foram calculadas utilizando o fator de indigestibilidade (FI): $FI = CIA \text{ dieta} / CIA \text{ excreta}$. A digestibilidade da MS (CDiMS) foi calculada segundo a equação: $CDiMS = 100 - FI$. A energia digestível foi calculada por: $EDi = EB \text{ dieta} - (EB \text{ conteúdo ileal} \times FI)$. O coeficiente de digestibilidade (CDi) da PB, do AD, do AR e do AT foram mensurado no conteúdo do íleo foi calculado por: $CDiPB = (PB \text{ dieta} - (PB \text{ conteúdo íleal} \times FI)) / PB \text{ da dieta} \times 100$.

Rendimento de carcaça

Para o rendimento de carcaça, foram selecionadas 64 aves de cada tratamento, sendo duas aves por box, selecionadas dentro de um desvio padrão da média de peso. As aves foram submetidas a um período de restrição alimentar de 8 horas antes do abate.

As aves foram pesadas vivas e insensibilizadas por deslocamento cervical e em seguida, sacrificadas pela sangria por meio do corte das artérias carótidas e veias jugulares com um corte transversal. Após o abate, foram removidas as penas, a cabeça, as vísceras e os pés das aves. Posteriormente, as carcaças foram lavadas e resfriadas durante 60 minutos à 2°C. A carcaça foi pesada e imediatamente após, foi feito os cortes de peito,

coxa e sobrecoxa e gordura e pesados individualmente. A relação entre o peso vivo e a carcaça eviscerada gerou o rendimento de carcaça (RC). Os rendimentos de peito (RP), rendimento de coxa e sobrecoxa (RC+S) e a gordura abdominal (GA) foram obtidos através da relação entre os pesos dos cortes e o peso vivo da ave.

Análise Estatística

O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso. Os dados foram previamente analisados quanto à sua normalidade pelo teste Shapiro-Wilk. Posteriormente, foram submetidos à análise de variância (ANOVA), em esquema fatorial 2x2 ao nível de 5% de significância. Para desdobramento da interação, os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Qualidade Física das Rações

Não foram encontradas diferenças para Finos, PDI e dureza dos peletes com e sem amilase, conforme tabela 16 ($P < 0,05$). Apesar dos valores bem altos de PDI, pois segundo Lara (2010), peletes com PDI entre 80 a 85% são considerados adequados em rações peletizadas (Lara, 2010), não era esperado nenhuma melhora na qualidade de pelete com a adição da enzima.

Desempenho

Não foram encontradas interações entre a enzima e a peletização nos parâmetros de desempenho ($P>0,05$), conforme tabela 17. Entretanto, foi observado maior CR e maior GP nos frangos que ingeriram dietas peletizadas em todos os períodos avaliados ($P<0,05$). Foi observado também melhor CA e CAJ para 3000g de 35 a 42 dias de idade ($P<0,05$). Alguns autores também relatam, maior CR, maior GP e melhor CA de frangos alimentados com dietas peletizadas comparados com os que ingeriram dietas fareladas (Moran, 1987; Dozier, 2001; Corzo et al., 2011). Entretanto, 43 a 47 dias de idade foi encontrado piora na CA e a CAJ para 3500g com a peletização ($P<0,05$) e de 35 aos 47 dias de idade não foi observado efeito da peletização na CA e nem para CAJ 3500g ($P>0,05$). Isso pode ter ocorrido em função dos frangos terem seu crescimento máximo aos 35,5 dias (Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos, 2017). Segundo a mesma referência, o GP diário de 35 dias para 42 dias cai cerca de 3%, enquanto que de 42 para 47 dias de idade reduz cerca de 7% o GP, dessa forma o período total avaliado (de 35 para 47 dias de idade) tem redução de cerca de 10% no GP diário. Gous et al. (1999), descreveram o ponto de inflexão da curva de crescimento em cerca de 43 dias, enquanto que Sakomura et al., (2005) próximo aos 45 dias, ou seja, a partir dessa idade o frango ganharia proporcionalmente menos peso. Isso acontece em função da curva de crescimento do animal, que inicia pelo tecido ósseo e posteriormente pelo tecido muscular e após os nutrientes passam a ser enviados para tecido adiposo para o armazenamento (Lawrence e Fowler, 1997). Em função das dietas peletizadas apresentarem maior consumo nas fases finais, e o ganho de peso ser menor, isso poderia resultar em uma pior CA.

Outro fator que pode ter influenciado, é que os animais que ingeriram a dieta peletizada tiveram maior GP no período anterior (35 a 42 dias de idade), isso faz com que

as aves estivessem mais pesadas que as que ingeriram a dieta farelada, fazendo com que a energia de exigência para manutenção seja maior. Nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (2017) é considerado que a exigência de energia para manutenção é de cerca de 113 kcal para cada kg de peso metabólico ($\text{Peso}^{0,75}$), dessa maneira as 0,116 kg de GP a mais encontradas para as dietas peletizadas resultariam em um incremento de cerca de 22,5 Kcal a mais na energia de manutenção dessas aves.

Em estudo, Gracia et al. (2003) verificaram melhora de até 4,7% no GP, 3,7% no CR e 1,8% na CA de frangos de 1 a 42 dias de idade alimentados com dietas a base de milho e farelo de soja suplementadas com amilase. No presente estudo, foi observado aumento de 2,1% no CR e 3,6% no GP de 35 aos 42 dias de idade (Tabela 17, $P < 0,05$). Também foi observado melhora de cerca de 2,8% na CAJ para 3500g de 35 a 47 dias de idade, com adição da enzima. Dados similares foram reportados por Onderci et al. (2006) que observaram aumento de 4,4% no CR, 4,6% no GP e 3% na CA de frangos de 1 aos 42 dias de idade. Os mesmos autores observaram que de 21 a 42 dias de idade os frangos essa diferença era reduzida para 0,7%, 3,4% e 1,3%, respectivamente. Jiang et al. (2008), avaliando frangos alimentados com doses crescentes de amilase exógena, reportaram aumento linear de 4,5% no GP e de 3,6% no CR. Esses resultados provavelmente são provenientes de uma melhor digestibilidade da dieta proporcionado pela suplementação da amilase.

Entretanto, Gracia et al. (2009) observaram somente efeito no desempenho de 1 a 4 dias de frangos alimentados com dietas suplementadas com amilase e não observaram efeito da enzima para nenhum outro parâmetro de desempenho nas demais fases. O mesmo foi notado nesse trabalho, que para CR e GP de 42 a 47 e de 35 a 47 dias de idade, não foram verificados efeitos, conforme tabela 17. E na CA não foram observados efeitos

da amilase ($P>0,05$). O mesmo foi observado por Mahagna et al. (1995), que também não encontraram efeito de desempenho da amilase utilizando dietas com sorgo.

Digestibilidade

Foi encontrado interação entre amilase e peletização no CDi da PB (Tabela 18, $P<0,05$). Um dos fatores que poderia ter contribuído para essa interação, é que a proteína se concentra principalmente no endosperma vítreo, no qual o amido está circundado por uma matriz proteica (Watson, 1987), dessa maneira com uma maior digestibilidade do amido a proteína estaria disponível para enzimas endógenas. Em função do processamento térmico, com o aumento da temperatura, a dieta pode sofrer a reação de complexação de aminoácidos com açúcares, incluindo os essenciais como lisina e triptofano, e também complexar com minerais prejudicando o valor biológico da dieta (Namiki, 1988; Friedman, 1996; Creswell e Bedford, 2006). Logo após o processamento térmico do alimento pode também haver outra reação química denominado retrogradação do amido em que ao resfriar-se pode sofrer o processo reverso da gelatinização (Atwell et al., 1988). Esse processo consiste na reorganização das cadeias de amilose sendo ligadas por pontes de hidrogênio formando duplas helicoidais (Bello-Pérez et al. 2006) e isso retira a água de dentro do grânulo, aumentando a viscosidade do amido (Lajolo e Menezes, 2006), podendo dificultar a digestão. Essa reação formada após a gelatinização do amido quando esfria ou envelhece, forma compostos cristalinos que tem alta resistência a digestão e são denominados amido resistente tipo 3 (Englyst et al., 1992). O amido em estado natural também tem estrutura cristalina que é denominada como amido resistente tipo 2 (Englyst et al., 1992). Ambas reações podem causar prejudicar a digestibilidade e com o resultado observado, a adição da amilase poderia reduzir esses efeitos, melhorando a digestibilidade da PB.

Outro fator que também pode ter contribuído para essa interação a concentração de 1 a 14 g de lipídeo/kg (Buleon et al., 1998; Abdel-Aal et al., 2002) e até 3 g de proteína/kg (Cornell et al., 1994; Hoover and Vasanthan, 1994; Vasanthan and Bhatta, 1996; Abdel-Aal et al., 2002) encapsulados no grânulo de amido. Assim, com a suplementação da amilase poderia liberar esses compostos para atuação das enzimas endógenas, podendo melhorar a digestão dessas frações.

A maioria dos cereais e das leguminosas podem conter inibidores de amilase (Buoncore e Silano, 1986) fazendo com que a secreção da enzima aumente implicando em maior custo de manutenção. Com a suplementação enzimática pode-se reduzir as perdas endógenas de aminoácidos o que resultaria em melhora na digestibilidade (Zanella et al., 1999). Segundo Vonk e Western (1984), a amilase endógena tem concentração elevada de ácido aspártico, glicina, ácido glutâmico, serina, valina e arginina. Dessa maneira, com a redução da secreção dessa enzima a ave pouparia esses aminoácidos, resultando em maior concentração de aminoácidos disponíveis para outras funções metabólicas da ave. Além disso, uma variação na concentração dos compostos inibidores e de enzimas pode causar uma diferença no valor nutricional do milho para frangos de corte e pode explicar por que a adição de enzimas pode afetar a digestibilidade de certos aminoácidos mais do que outros (Zanella et al., 1999).

Para os demais parâmetros de digestibilidade não foram encontradas interações ($P>0,05$), mas foram encontrados efeitos isolados. Na literatura há relatos de melhora da digestibilidade quando se utiliza o processo de peletização (Moran, 1987; Zalenka, 2003). A digestibilidade seria melhorada pela alteração da estrutura físico-química do amido (Wiseman, 2006) e também da fibra da dieta (Björck et al., 1994) facilitando o acesso da amilase e de outras enzimas digestivas da dieta (Gracia et al., 2008).

Entretanto, no presente estudo foram encontrados menores coeficientes de digestibilidade da MS, do AR nas dietas peletizadas ($P<0,05$). Essa redução na digestibilidade poderia ser explicada pelo alto consumo das dietas peletizadas em detrimento as fareladas. Segundo Duke (1986), a digestão e absorção de nutrientes podem ser influenciadas pela taxa de passagem ao longo do trato. Quando a ingestão de alimento é reduzida, a taxa de passagem é menor, podendo melhorar a digestibilidade (Scott e Silversides, 2003). Dessa forma, o maior consumo observado poderia ter aumentado a taxa de passagem, reduzindo o tempo de exposição à ação de enzimas e à absorção dos nutrientes na mucosa intestinal. No presente estudo, o CR aumentou de 2481 g em dietas fareladas para 2807 g nas peletizadas. E, sabendo que o CDI da MS foi reduzido de 78,74% nas dietas fareladas para 77,13% nas dietas peletizadas, o aproveitamento da MS em relação ao total de ração consumido para o período foi de 1954g para dieta farelada e 2165g para a peletizada. Esse aumento de cerca de 11% de MS aproveitada nas dietas peletizadas, resultaria em melhor desempenho da ave.

Outro fator que pode ter impactado na digestibilidade do AR, já mencionado é a retrogradação, causada pelo processamento térmico que poderia dificultar o acesso das enzimas endógenas ao substrato. Além desse amido resistente, também há nos cereais inibidores de amilase que interferem negativamente na digestibilidade do amido (Granum e Eskeland, 1981, Al-Kahtani, 1999)

Os frangos alimentados com dietas suplementadas com amilase apresentaram aumento no CDi da MS ($P<0,05$). Os dados estão de acordo com Zanella et al. (1999), que observaram melhora de cerca de 2% na digestibilidade ileal utilizando complexo enzimático contendo amilase, protease e xilanase em dietas à base de milho e farelo de soja. Utilizando amilase monocomponente em dietas para frangos de corte de 28 dias foi encontrado melhora de 2,5% na digestibilidade de MS (Gracia et al., 2003).

No presente estudo, verificou-se melhora de cerca de 8% na CDi do AR ($P < 0,05$). Esses dados estão de acordo com o encontrado na literatura, um aumento na digestibilidade da amilose, amilopectina e do amido total em frangos alimentados com dietas suplementadas com 1,4 amilase de *A. oryzae*. (Yuan et al., 2016). Esses dados também corroboram com Gracia et al. (2003) e Stefanello et al. (2015), que observaram melhora de 1,8% e 0,7% na digestibilidade ileal do amido total respectivamente. Entretanto, Gracia et al. 2008, avaliando a digestibilidade do amido com frangos em diferentes idades, não encontraram efeito da enzima. O mesmo foi observado no presente estudo, em que não foi encontrado efeito da enzima no CDi do AT ($P > 0,05$).

Também não foram observadas diferenças de processamento e a enzima para CDi do AD ($P > 0,05$). O amido apresenta apenas ligações α -glicosídicas, dessa maneira é um composto que pode ser digerido pelas enzimas produzidas no trato digestível (Englyst e Hudson, 1996). O que não é digestível seria o AR, dessa maneira, o resultado observado nesse estudo foi consequência de que o AD é a fração do amido que é considerada disponível para o animal e dificilmente melhorar-se-ia a digestibilidade dessa fração. A metodologia proposta Englyst et al. (1987), o amido disponível é o que é digerido em água fervente com ação de amilase e pululanase. Sendo o amido resistente, determinado com a utilização de hidróxido de potássio ou dimetilsulfóxido, dessa maneira segundo Berry (1986), esses compostos são solventes fortes e solubilizam compostos que estão resistentes de maneira física mais do que química. Por outro lado, outros autores afirmam que somente o amido resistente tipo 3 é o que é analisado. Isso porquê o AR1 seria liberado pela moagem e o AR2 pela gelatinização (Asp, 1996 e Wolf et al., 1999).

Foi encontrado no presente estudo melhora de 2% na EDi. Resultado similar aos encontrados na literatura, em que são reportados de 2 a 3% de melhora na EMA de dietas suplementadas com complexos multienzimáticos (Zanella et al., 1999; Douglas et al.,

2000; Rutherford et al., 2007; Stefanello et al., 2015). Utilizando somente a amilase, Gracia et al. (2003) também observaram aumento na digestibilidade de 1,7 a 3%. Stefanello et al. (2015) também utilizando amilase encontraram cerca de 2% de melhora na EMA de frangos de corte com 21 dias de idade. Essa melhora de energia é resultado da melhoria da digestibilidade de outras frações da dieta, como a PB e o AR, e também da redução do turnover da enzima.

Na literatura, há também relatos de aumento de comprimento de vilosidade intestinal nas aves (Ritz et al. 1995; Onderci et al., 2006). Isso poderia aumentar a área de absorção resultando em aumento da digestibilidade, não somente do amido, mas também de outras frações da dieta (Caspary, 1992), resultando em uma maior energia disponível para outras funções da ave.

Rendimento de carcaça

Não foram observadas interações entre amilase e processamento da dieta para nenhum dos parâmetros avaliados de rendimento de carcaça ($P>0,05$) de acordo com tabela 19. Apesar dos frangos alimentados com dietas suplementadas com amilase apresentarem cerca de 5,7% a mais de gordura abdominal, não houve diferença significativa. Isso pode ter ocorrido em função do elevado CV encontrado para esse parâmetro (20,28%). Também não foi observado efeito da amilase para nenhum outro parâmetro de carcaça ($P>0,05$). Esses dados estão de acordo com Zanela et al. (1999), que não encontraram efeito das enzimas nos rendimentos de carcaça e cortes. Entretanto, os animais que ingeriram dietas com enzima podem apresentar peso de pâncreas menor e menor produção endógena de enzimas (Gracia et al., 2003).

Foi verificado maior deposição de gordura abdominal nos frangos que ingeriram dietas peletizadas ($P < 0,05$). Resultados similares são encontrados na literatura, em que os autores também encontraram maior acúmulo de gordura abdominal em frangos alimentados com dietas peletizadas (Jensen et al., 1962; Biagi, 1990; Nilipour, 1993; Capdevila, 1997; Toledo, 2001). Esse efeito é justificado por Toledo et al. (2001) pelo aumento de consumo e por consequência maior ingestão de nutrientes pela ave. Esse excesso de nutrientes, acima do necessário para manutenção e crescimento é depositado na forma de gordura abdominal (Lemme et al., 2006).

Não foram encontrados nesse experimento efeitos da peletização nos rendimentos de carcaça e de cortes ($P > 0,05$). Comparando frangos alimentados com dietas fareladas e peletizadas, López e Baião (2002), também não observaram diferenças nos rendimentos de cortes de frangos com 43 dias de idade. Entretanto há relatos na literatura de melhora de rendimento de carcaça, sem melhora no rendimento de cortes (Souza et al., 2008).

CONCLUSÃO

A amilase e o processamento térmico interagem de forma positiva na digestibilidade da PB. A peletização piora a digestibilidade da proteína e a amilase melhora em cerca de 3%. Apesar da peletização piorar a digestibilidade da MS (2,0%), PB (2,8%), amido resistente (5,0%), em função da elevada ingestão de nutrientes ela melhora a energia (105 Kcal/kg de MS) e o desempenho de frangos na fase final e também favorece o maior acúmulo de GA (20%). Já a amilase melhora a digestibilidade ileal da MS, do AR (2,4%) e consequentemente a EDi (73 Kcal/kg de MS), podendo resultar em melhora de desempenho.

REFERÊNCIAS

- Abdel-Aal, E.-S.M., Hucl, P., Chibbar, R.N., Han, H.L., Demeke, T., 2002. Physicochemical and structural characteristics of flours and starches from waxy and nonwaxy wheats. *Cereal Chem.* 79, 458– 464.
- Abdollahi, M. R., V. Ravindran, and B. Svihus. 2013. Influence of grain type and feed form on performance, apparent metabolisable energy and ileal digestibility of nitrogen, starch, fat, calcium and phosphorus in broiler starters. *Anim. Feed Sci. Technol.* 186:193-203.
- Adedokun SA, Sands JS, Adeola O (2004) Determining the equivalent phosphorus released by an *Escherichia coli*-derived phytase in broiler chicks. *Canadian Journal of Animal Science* 84, 437–444.
- Al-Kahtani, H. A. 1999. Some anti-nutritional factors in *Moringa peregrina* (AlYassar or Al-Ban) and soybean products. *Journal of Food Science, Chicago*, v. 60, n. 2, p. 395-398, Mar.
- Asp, N.G. 1996. Dietary carbohydrates: classification by chemistry and physiology. *Food Chem.*, 57:1: 9-14.
- Association of the Official Analytical Chemists. 1995. *Official Methods of Analysis*, 16.ed. AOAC, Washington, DC.
- Association of the Official Analytical Chemists International. 2000. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. AOAC Int., Arlington, VA.
- Atwell, W. A.; Hood, I. F.; Lineback, D. R.; Varriano-Martson, E.; Zobel, H. F. The terminology and methodology associated with basic starch phenomena. *Cereal Foods World*, Minneapolis, v. 33, n. 3, p. 306-311, Mar. 1988.
- Bach Knudsen, K. E. 1997. Carbohydrate and lignin contents of plant materials used in animal feeding. *Anim. Feed Sci. Technol.* 67:319–338.
- Bello-Pérez, L.A., M.G.M. Montealvo, E.A. Acevedo (2006) Almidón: definición, estructura y propiedades. In: *Carbohidratos em alimentos regionais iberoamericanos*. São Paulo: Edusc, 2006. Cap. 1, p.17-46.
- Berry, C.S. 1986. Resistant starch: formation and measurement of starch that survives exhaustive digestion with amylolytic enzymes during the determination of fibre dietary. *J. Cereal Sci.*, 4:301-314.

- Biagi, J.D. Tecnologia da peletização da ração. In: SIMPÓSIO DO COLÉGIO BRASILEIRO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 1990, Campinas. Anais... Campinas: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, p.37-59, 1990.
- Björck, I., Granfeldt, Y., Liljeberg, H., Tovar, J., Asp, N.G. 1994. Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. *American Journal of Clinical Nutrition*. 59 (supplement), 699S-705S.
- Buleon, A., Colonna, P., Planchot, V., Ball, S., 1998. Starch granules: structure and biosynthesis. *Int. J. Biol. Macromol.* 23, 85–112.
- Buoncore, V.; Silano, V. Biochemical, nutritional and toxicological aspects of alpha-amylase inhibitors from plant foods In: FRIEDMAN, M. (Ed.). *Biochemical nutritional toxicological significance of enzyme inhibitors in foods*. New York: Plenum, 1986. p. 483-507.
- Capdevila, J. 1997. Efectos de la granulación sobre la formulación de raciones en avicultura. *Sel. Avícola*, v.39, p.465-474.
- Carré B. Causes for variation in digestibility of starch among feedstuffs. *World Poult Sci J.* 2004;60:76–89.
- Cornell, H.J., Hoveling, A.W., Chryss, A., Rogers, M., 1994. Particle size distribution in wheat starch and its importance in processing. *Starch* 46, 203–207.
- Corzo, A.; Mejia, L.; Loar, I.I.R.E. 2011. Effect of pellet quality on various broiler production parameters. *Journal Applied of Poultry Research*. v.20, p.68–74.
- Caspary W. F. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* 55, 299–308.
- COBB-VANTRESS. Manual de manejo de frangos Cobb 500: guia de manejo. Cobb-Vantress, São Paulo, 2001. 47p.
- Douglas, M.W., C.M. Parsons, M.R.Bedford. 2000. Effect of various soybean meal sources and avizyme on chick growth performance and ileal digestible energy. *J. Appl. Poult. Res.* 9,74–80.
- Dozier, W. A. Pelet de calidad para obtener carne de ave más economica. *Alim. Balanc. Anim.*, v.8, p.16-19, 2001.
- Duke, G.E., 1986. Alimentary canal: Anatomy, regulation of feeding and motility. In: *Avian Physiology*. Ed: P.D. Sturkie. New York, Springer Verlad, pp. 269-288.
- Englyst, H. N., H. S. Wiggins, and J. H. Cummings. 1982. Determination of the non-starch polysaccharides in plant foods by gas-liquid chromatography of constituent sugars as alditol acetates. *Analyst*. 107, 307–318.

- Englyst, H.N. et al. 1987. Polysaccharide breakdown by mixed populations of human faecal bacteria. *FEMS Microbiol Ecol.*, 95: 163-171.
- Englyst, H. N. et al. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *Eur. J. Clin. Nutr.*, London, 46:s33-s50.
- Englyst, H.N. and Hudson, G.J. 1996. The Classification and Measurement of Dietary Carbohydrates. *Food Chemistry*, 57, 15-21.
- Friedman, M. 1996. 'Food Browning and Its Prevention: An Overview' in *J. Agric. Food Chem.* 44, 631–653.
- Gous et al. 1999. Evaluation of parameters needed to describe the overall growth, the chemical growth, and the growth of feathers and breast muscles of broilers. *Poultry Science*. 78:6, 812-821.
- Gracia, M.I. et al. 2003. α -amylase supplementation of broiler diets based on corn. *World's Poultry Science Journal*. 82, 436-442.
- Gracia, M.I. et al. 2009. Influence of enzyme supplementation of diets and cooking-flaking of maize on digestive traits and growth performance of broilers from 1 to 21 days age. *Animal Feed Science and Technology* 150:303–315.
- Granum, P. E.; Eskeland, B. 1981. Nutritional significance of amylase inhibitors from wheat. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v. 23, n. 1, p. 155-162.
- Hoover, R., Vasanathan, T., 1994. Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of cereal, legume, and tuber starches. *Carbohydr. Res.* 252, 33–53.
- Isaksen, M. F. et al. Starch- and Protein-degrading Enzymes: Biochemistry, Enzymology and Characteristics Relevant to Animal Feed Use. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. 2.ed. 2011. Cap.4, p.85-95.
- Jensen LS, Merrill LH, Reddy CV, McGinnis J. 1962. Observations on eating patterns and rate of food passage of birds fed pelleted and unpelleted diets. *Poultry Science*, 41:1414–1419.
- Jiang, Z., Y. Zhou, F. Lu, Z. Han, and T. Wang. 2008. Effects of different levels of supplementary α -amylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers. *Asian-australas. J. Anim. Sci.* 21, 97–102.
- Lajolo, F.M.; Menezes, E.W. *Carboidratos en alimentos regionales Iberoamericanos*. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006. 648p.

- Lara, M. A. M. Processo de produção de ração – moagem, mistura e peletização. 2010. Disponível em: <http://www.nftalliance.com.br/assets/Uploads/Artigo-Unifrango-2.pdf>
- Lawrence, T.; V.R. Fowler. Grow of farm animals. New York: CAB, 1997. 330p.
- Lemme, A.; Wijtten, P.J.A.; Van Wichen, J. 2006. Responses of male growing broilers to increasing levels of balanced protein offered as coarse or pellets of varying quality. *Poultry Science*, Champaign, v.85, p.721-730.
- López, C.A.A.; Baião, N.C. Efeitos da moagem dos ingredientes e da forma física da ração sobre o desempenho de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.54, p.189-195, 2002.
- Mahagna, M., I. Nir, M. Larbier, and Z. Nitsan. 1995. Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. *Reprod. Nutr. Dev.* 35, 201–212.
- Mckinney, L. J., and R. G. Teeter. 2004. Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: I. Pellet quality and II. Prediction of consequential formulation dead zones. *Poult. Sci.* 83:1165-1174.
- Meinerz, C., A. M. L. Ribeiro, A. M. Penz Jr, and A. M. Kessler. 2001. Níveis de energia e peletização no desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte com oferta alimentar equalizada. *Rev. Bras. de Zootec.* 30:2026-2032.
- Moran, E.T. 1985. Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. *Journal of Nutrition.* v.115, p.665-674.
- Moran, E.T. 1987. Pelleting: affects feed and its consumption. *Poultry Science*, Champaign, v.5, p.30-31.
- Namiki, H.E. 1988. ‘Chemistry of Maillard Reactions: Recent Studies on the Browning Reaction Mechanism and the Developments of Antioxidants and Mutagens’ in *Adv. Food Research* 32, 115–184.
- Nilipour, A. La peletización mejora el desempeño? *Industria Avícola*. Illinois, p.4246, 1993.
- Noy, Y., Sklan, D. 1995. Digestion and absorption in the young chick . *Poult. Sci.* 74:366-373.
- Onderci M, et al. 2006. Efficacy of supplementation of α -amylase-producing bacterial culture on the performance, nutrient use, and gut morphology on broiler chickens fed a corn-based diet. *Poultry Science.* 85:505-510.

- Ritz, C. W., R. M. Halet, B. B. Self and D. M. Denbow. 1995. Endogenous amylase levels and response to supplementation feed enzymes in male turkeys from hatch to eight weeks of age. *Poult. Sci.* 74, 1317-1322.
- Rostagno, H. S. et al. Tabelas Brasileiras de Composição de alimentos e exigências nutricionais: Composição de Alimentos e Exigências Nutricionais. 4ªed. Viçosa: UFV, 2017. 488.
- Rutherford, S.M., T.K. Chung, and P.J. Moughan. 2007. The effect of a commercial enzyme preparation on apparent metabolizable energy, the true ileal amino acid digestibility, and endogenous ileal lysine losses in broiler chickens. *Poult. Sci.* 86, 665–672.
- Sakomura, N.K. et al. 2005. Modeling energy utilization and growth parameter description for broiler chickens. *Poultry Science.* 84:1363–1369.
- Scott, T.A., F. Boldaji. 1997. Comparison of inert markers [chromic oxide or insoluble ash (Celite™)] for determining apparent metabolizable energy of wheat- or barley-based broiler diets with or without enzymes. *Poultry Science.* 76: 594-598.
- Scott, T.A. and Silversides, F.G. (2003). Defining the effects of wheat type, water inclusion level, and wet–diet restriction on variability in performance of broilers fed wheat–based diets with added water. *Canadian Journal of Animal Science* 83, 265–72.
- Skinner-Noble, D. O., L. J. McKinney, and R. J. Teeter. 2005. Predicting effective caloric value of nonnutritive factors: III. Feed form affects broiler performance by modifying behavior patterns. *Poult. Sci.*, 84:403–411.
- Sklan, D. et al. 2003. Ontogeny of brush border carbohydrate digestion in the chick. *Br. J. Nutr.* 89,747–753.
- Soto-Salanova, M.F., Garcia, O., Graham, H. et al. Uso de enzimas em dietas de milho e soja para frangos de corte. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1996, Curitiba. Anais...Curitiba:Facta, 1996. p.71-76.
- Souza, R.M.; Bertechini, A.G.; Sousa, R.V.; Rodrigues, P.B.; Carvalho, J.C.C; Brito, J.A.G. Efeitos da suplementação enzimática e da forma física da ração sobre o desempenho e as características de carcaça de frangos de corte. *Revista Ciência e Agrotecnologia*, v.32, n.2, p.584-590, 2008.
- Stefanello, C. et al. 2015. Starch digestibility, energy utilization and growth performance of broilers fed cornsoybean basal diets supplemented with enzymes. *Poult. Sci.* 94, 2472–2479.

- Svihus, B., K. H. Klovstad., O. Zimonja. 2004. The effect of using un-ground corn instead of ground corn before pelleting on performance and feed utilisation in broilers. In: World's Poultry Congress. World's Poultry Science Association, Istanbul, Turkey. CD WPC 2004, fullpaper/1053.
- Tester, R. F., J. Karkalas, and X. Qi. 2004. Starch–Composition, fine structure and architecture. *J. Cereal Sci.* 39, 151–165.
- Toledo, R.S.; Vargas Jr., J.G.; Albino, L.F.T. Aspectos práticos da nutrição pós-eclosão: níveis nutricionais utilizados, tipos de ingredientes e granulometria da dieta. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2001, Campinas. Anais... Campinas: FACTA, p.153-167, 2001.
- Uni, Z., Y. Noy, D. Sklan. 1995. Post hatch changes in morphology and function of small intestines in heavy and light strain chicks. *Poultry Science*. 74, 1622-1629.
- Vasanthan, T., Bhatta, R.S., 1996. Physicochemical properties of small- and large-granule starches of waxy, regular and high amylose barleys. *Cereal Chem.* 73, 199–207.
- Vonk, H. J.; Western, I. R. H. Comparative biochemistry and physiology of enzymatic digestion. London: Academic, 1984.
- Watson, S.A. 1987. Structure and composition. In: Corn: chemistry and technology. S.A. Watson and P.T. Ramstad, eds. Am. Assoc. Cereal Chem. St. Paul, MN. pp. 53-82.
- Weurding, R.E. et al. 2003. The effect of site of starch digestion on performance of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 110, 175-184.
- Wiseman, J., 2006. Variations in starch digestibility in non-ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 130 (1/2): 66-77
- Wolf, B.W. et al. 1999. Effects of chemical modification on *in vitro* rate and extent of food starch digestion: attempt to discover a slowly starch. *J. Agr. Food Chem.*, 47:4178-4183.
- Yuan, J. et al. 2017. Effect of different amylases on the utilization of cornstarch in broiler chickens. *Poultry Science* 96:1139–1148
- Zalenka, J. Effect of pelleting on digestibility and metabolizable energy of poultry diets. In: European symposium on poultry nutrition, Lillehammer. Proceedings... Lillehammer: World's Poultry Science Association, p.127-128, 2003.

Zanella, I., N. K. Sakomura, F. G. Silversides, A. Figueirdo, and M. Pack. 1999. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. *Poult. Sci.* 78, 561–568.

Tabela 14. Dietas experimentais.

Diet composition (g/kg dieta)	g/kg
Milho	582.2
Farelo de soja	306.3
Óleo de soja	43.1
Caulim	30.0
Celite ¹	10.0
Fosfato Bicálcico ²	10.2
Calcário	8.0
Sal (NaCl)	3.8
Premix Mineral ³	0.5
Premix Vitamínico ⁴	0.8
L-Lisina	2.1
DL- Metionina	2.2
L-Treonina	0.7
BHT	0.1
Composição calculada (g/kg dieta)	
EMA (kcal/kg dieta)	2.950
Proteína Bruta	182
Cinzas	46.9
Gordura	69.1
Cálcio	6.4
Fósforo total	5.3
Fósforo disponível	3.0
Sódio	1.6
Lisina Digestível	10.1
Metionina Digestível	4.6
Metionina + Cisteína Digestível	7.4
Treonina Digestível	6.6
Triptofano Digestível	1.9

¹Marcador indigestível (Celite, Celite Corp., Lompoc, CA).

²Composição: 0.013% de Cl; 24.00% de Ca; 18.5% de aP; 0.1 de K; 0.06 de Na.

³Concentração por kg: iodo, 2mg; selênio, 200qg; cobre, 20mg; ferro, 50mg; manganês, 120mg; zinco, 100mg.

⁴Suplementação por kg: vit. A, 15000 IU; vit. D3, 5000 IU; vit. E, 100mg; vit. K, 5mg; ácido fólico, 3mg; ácido nicotínico, 75mg; ácido pantotênico, 25mg; riboflavina, 8mg; tiamina, 5mg; piridoxina, 7mg; biotina, 300qg; colina, 400mg; vit. B12, 20qg.

Tabela 15. Tratamentos experimentais.

Tratamento	Processamento	Amilase
F+0	Farelada	0
F+A	Farelada	80 KNU/Kg
P+0	Peletizada	0
P+A	Peletizada	80 KNU/Kg

Tabela 16. Resultado de qualidade física das dietas peletizadas.

Amilase(KNU/kg)	Finos	PDI	Dureza
0	4,267	93,700	6,498
80	4,484	93,700	7,012
CV	13,00%	0,88%	6,98%
P	0,5790	0,9999	0,0849

Tabela 17. Consumo de ração (CR; g), ganho de peso (GP; g), conversão alimentar (CA; g/g) e conversão alimentar ajustada para 3000g e 3500g (CAJ3000 e CAJ3500, respectivamente) de frangos de corte de 35 a 47 dias de idade alimentados com dietas fareladas e peletizadas com e sem amilase.

Dietas	Amilase (KNU/kg)	35 a 42 dias de idade				43 a 47 dias de idade				35 a 47 dias de idade			
		CR	GP	CA	CAJ3000	CR	GP	CA	CAJ3500	CR	GP	CA	CAJ3500
Farelada	0	1.457	0.805	1.812	1.814	1.043	0.483	2.164	2.120	2.494	1.288	1.939	1,933
Farelada	80	1.480	0.851	1.750	1.791	1.056	0.496	2.210	2.099	2.467	1.334	1.917	1,870
Pelletizada	0	1.596	0.927	1.723	1.726	1.199	0.549	2.191	2.214	2.788	1.465	1.898	1,900
Pelletizada	80	1.637	0.960	1.710	1.691	1.197	0.532	2.252	2.208	2.827	1.502	1.890	1,876
Farelada		1.469	0.828	1.781	1.777	1.049	0.490	2.144	2.151	2.481	1.311	1.899	1,901
Pelletizada		1.617	0.944	1.716	1.709	1.198	0.540	2.211	2.211	2.807	1.483	1.894	1,888
	0	1.526	0.866	1.767	1.770	1.121	0.516	2.167	2.167	2.641	1.376	1.914	1,917
	80	1.559	0.906	1.730	1.741	1.126	0.514	2.154	2.164	2.647	1.418	1.875	1,873
CV(%)		5.47	7.62	4.36	4.73	8.08	6.16	5.76	5.42	6.38	7.13	4.24	3,26
<i>P</i>													
Dieta (D)		<0.0001	<0.0001	0.0125	0,0027	<0.0001	0.0001	0.0072	0,0218	<0.0001	<0.0001	0.6236	0,5348
Amilase(A)		0.0248	0.0135	0.4332	0,2146	0.4207	0.3091	0.5616	0,7524	0.3356	0.1713	0.2710	0,0520
D*A		0.5106	0.2138	0.9543	0,8139	0.1369	0.3986	0.9307	0,8502	0.7300	0.5456	0.8272	0,3712

Tabela 18. Coeficientes de digestibilidade ileal da matéria seca (CDiMS), da proteína bruta (CDiPB), do amido disponível (CDiAD), do amido resistente (CDiAR) e do amido total (CDiAT) e energia digestível ileal (EDI) de frangos de corte aos 47 dias de idade alimentados com dietas fareladas e peletizadas com e sem amilase.

Dietas	Amilase (KNU/kg)	Coeficientes de Digestibilidade, %					EDI (kcal/kg de MS)
		MS	PB	AD	AR	AT	
Farelada	0	78,45	88,87	95,54	78,17	94,38	3731
Farelada	80	79,02	87,93	95,38	82,73	94,45	3781
Peletizada	0	75,53	84,00	95,11	72,55	93,76	3813
Peletizada	80	78,72	87,75	95,59	80,20	94,61	3909
Farelada		78,74	88,40	95,46	80,45	94,42	3756
Peletizada		77,13	85,87	95,35	76,38	94,18	3861
	0	76,99	86,43	95,32	75,36	94,07	3772
	80	78,87	87,84	95,48	81,47	94,53	3845
CV(%)		3,32	4,09	1,54	7,50	1,54	3,32
<i>P</i>							
Dieta (D)		0.0350	0.0121	0.8145	0.0084	0.6210	0.0055
Amilase(A)		0.0150	0.1492	0.7460	0.0002	0.3352	0.0447
D*A		0.0830	0.0191	0.5051	0.2970	0.4157	0.5126

Tabela 19. Rendimento de carcaça (RC), rendimento de peito (RP), rendimento coxa e sobrecoxa (RC+S) e gordura abdominal (GA) de frangos de corte aos 47 dias de idade alimentados com dietas fareladas e peletizadas com e sem enzima.

Dietas	Amilase (KNU/kg)	Rendimentos, %			
		RC	RP	RC+S	GA
Farelada	0	80,11	29,81	21,56	0,93
Farelada	80	80,37	30,26	21,32	1,03
Peletizada	0	79,39	29,12	21,85	1,18
Peletizada	80	79,33	29,80	21,47	1,20
Farelada		80,24	30,04	21,44	0,98
Peletizada		79,36	29,46	21,66	1,19
	0	79,75	29,47	21,71	1,05
	80	79,85	30,03	21,39	1,11
CV(%)		1,96	4,34	4,45	20,28
<i>P</i>					
Dieta (D)		0,0979	0,1798	0,4911	0,0076
Amilase(A)		0,8498	0,1913	0,3215	0,4188
D*A		0,7592	0,7924	0,8285	0,5785